

THÈSE

en vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ PARIS-SUD XI

Discipline : Physique Médicale

École doctorale : MIPÈGE

Radiothérapie par photoactivation de nanoparticules : modélisation à l'échelle sub-micrométrique et comparaison expérimentale

Soutenue le 26 février 2013 par

Rachel Delorme

Jury

Jacques BALOSSO	Rapporteur
Christophe CHAMPION	Directeur de thèse
Pierre DÉSESQUELLES	Examineur
Sébastien INCERTI	Rapporteur
Albert LISBONA	Examineur
Cécile SICARD-ROSELLI	Examineur

Invités

Mathieu AGELOU	Encadrant de thèse
Hélène ELLEAUME	Co-Directrice de thèse

Remerciements

Me voici donc arrivée à l'écriture des remerciements, partie la plus importante si l'on considère le nombre de personnes qui les lisent par rapport au reste du manuscrit (si si toi là-bas, ne fais pas l'innocent je sais bien que tu ne liras que ça!).

N'ayant pas eu l'occasion de remercier tout le monde à la soutenance, je vais profiter de cette deuxième chance pour le faire. J'ai été très bien entourée durant ces trois années, au niveau du travail et de la vie personnelle, je dois beaucoup à toutes ces personnes sans qui je n'en serais pas là aujourd'hui.

Il faut tout d'abord que je remercie mes parents, qui m'ont toujours soutenue dans mes activités et dans mes études en me laissant le choix de mes envies. Je sais que rien ne pouvait vous faire plus plaisir que de me voir arriver au bout de ce long chemin, ma récompense aura été de voir la fierté dans vos yeux au moment de la soutenance. Je remercie aussi mes frères, Françoise, Denis et le reste de la famille et belle-famille qui ont suivi mes avancées et m'ont encouragée tout au long de la thèse.

J'ai à présent une pensée pour les deux professeurs, Yannick Arnoud et Jean-François Adam, qui ont joué des rôles clés dans mes choix d'études depuis le M1 jusqu'au post-doctorat que j'occupe aujourd'hui, de par leurs conseils, la confiance qu'ils m'ont apportée et leur amitié. Je compte bien encore vous emmener grimper pour vous remercier (je n'ai pas oublié le pacte!).

Pour en venir à la thèse au CEA, je remercie sincèrement Christophe Champion qui a accepté de la diriger malgré la distance. Le courant est bien passé entre nous et les échanges que nous avons eus, même peu nombreux, ont été très enrichissants pour l'orientation de la thèse. J'espère que nous pourrons continuer à travailler ensemble car il y a encore beaucoup à faire dans le domaine des nanoparticules! Je remercie aussi Mehdi Gmar et Bénédicte Poumarède qui m'ont acceptée au sein du LM2S et accordé leur confiance pour mener à bien ce sujet. La collaboration que nous avons montée dans le cadre de la thèse avec l'INSERM et le LAN à Grenoble a porté ses fruits et j'espère qu'elle perdurera sur le long terme, je compte sur Mathieu pour y veiller!

A ce sujet, je veux remercier François Estève qui a accepté la collaboration et Hélène Elleaume qui a bien voulu co-diriger la thèse, cela m'a ainsi permis d'apporter un aspect expérimental très enrichissant pour un sujet comme le mien. Tout ceux qui connaissent Hélène savent quelle est bien plus qu'une directrice, encadrante ou collègue. Malgré ses responsabilités et soucis, elle a de l'énergie, des idées et de la bonne humeur à revendre, avec une attention quasi-maternelle pour ses thésardes et

stagiaires. Ce fut un réel plaisir de travailler avec toi. Merci aussi à Jean-Luc Ravanat qui n'a pas officiellement co-encadré la thèse mais m'a apporté une aide précieuse tout au long de ces trois années. Je garde d'excellents souvenirs de mes séjours grenoblois dans l'équipe. Merci mille fois Laure, Florence et Mélanie (Flaender!) pour m'avoir appris à faire quelque chose de mes mains avec des pipettes et des cellules, ça a été un plaisir de vous aider durant ces manip synchrotron et quoi de mieux que l'ambiance ID17 pour compter des boîtes de Petri! Je remercie aussi toutes les autres personnes que j'ai côtoyées et qui ont participé à cette bonne ambiance, entre autres Pierre, Mathias, Thierry, Christian, Manu et Jef.

Mais ma vie de thésarde s'est bien sûr passée surtout à Saclay. Malgré tout ce que je vous ai bassiné avec mon chauvinisme grenoblois je me suis finalement très bien adaptée à la vie parisienne et en écrivant ceci aujourd'hui depuis Grenoble j'ai un pincement au cœur en pensant à tout ce qui va me manquer de ces trois années. J'ai eu beaucoup de plaisir à travailler au LM2S et j'y ai beaucoup appris.

Mathieu j'ai été ta première thésarde et malgré ce que tu peux en dire tu t'en es très bien tiré! Tu as su m'écouter, me remonter le moral, me conseiller et m'orienter dans mon travail comme tu as pu en prenant le train en marche, corriger tous mes écrits et présentations avec une application et une rapidité impressionnantes et tu as même participé à combler mes lacunes culturelles, géographiques et historiques! Merci pour tout, ces trois années ont été une réussite et un plaisir grâce à toi.

Partant de relativement bas, mes compétences en simulation et en informatique ont fait un bond considérable au point que certains se leurrent à me prendre pour une geekette! Ces compétences je les dois beaucoup à Juan-Carlos García-Hernández (on n'a pas idée d'avoir un nom si long!), qui a pris du temps pour m'expliquer les subtilités de Penelope et corriger les différents bugs de code et plantages de cluster que j'ai pu initier. Merci Juan pour ton aide et ton amitié. Je dois aussi remercier François, l'ours sensible du labo, dont les yeux pétillent lorsqu'on lui parle de montagne ou de physique et sans qui j'aurais eu bien du mal à faire interagir mes RX dans mes petites nanoparticules. Merci pour ton partage des belles images et de tes connaissances très utiles pour la thèse. J'ai aussi eu la chance d'avoir un grand frère de thèse, d'un mois et demi mon aîné, qui m'a aidée à anticiper les étapes communes aux thésards et qui m'a bien adoptée malgré ma tendance à trop parler (la taille de mes remerciements en témoigne), merci pour tout Igor! Avec encore Isabelle, Fanny, Fabrice et David, vous avez été des amis autant que des collègues et je vous remercie pour les bons moments partagés, des pauses thé aux soirées, en passant par les lapinoux de la courette et les squattages de bureau lorsque le besoin de parler se faisait ressentir.

Il serait trop long de remercier tout le monde en détail mais j'ai apprécié de travailler avec chacun d'entre vous et de partager des moments hors labo lors des repas, sorties piscine, discussions de café et couloir entre autres choses. Le LM2S reste quand même le labo le plus fun du DCSI!

Bien sûr le 516 est grand et j'ai aussi eu l'occasion de rencontrer et apprécier différentes personnes en dehors du labo, notamment à la fameuse pause café du

matin si conviviale et qui me manque bien ici. Je remercie tous ceux du LCAE, LOAD, LIMA et LITT qui se reconnaîtront, avec qui j'ai échangé des discussions variées autour de centres d'intérêts plus ou moins communs. J'ai appris un tas de choses à ces pauses café et aussi bien rigolé, merci pour ces moments de détente devenus essentiels pour commencer la journée avec un moral d'acier. J'ai une pensée particulière pour Flore, Séb et Guillaume L, que j'ai gardés comme amis en dehors du CEA et particulièrement à Guillaume M à qui je dois beaucoup et avec qui j'ai partagé de très bons moments parisiens malgré nos caractères pas toujours compatibles.

Pour finir je remercie mes amis de plus ou moins longue date, plus ou moins grenoblois, physiciens ou grimpeurs, qui comptent tant pour moi. Je peux citer entre autres Vince L, Rod, Dan, Pico, Ricou, Jerem, François, Jef, FX, Eole, Lucile, Ben Miller (et toute la famille d'accueil!), Fab, Mael, Caro, Séb, Simon... et j'en oublie plein.

Tout cela pour dire que je suis bien arrivée au bout de la thèse et, grâce à beaucoup de gens, avec de bons résultats et l'esprit sain. Je tiens donc à remercier les membres du jury d'avoir accepté d'en faire partie pour juger de mon travail. Je remercie Sébastien Incerti d'avoir rapporté très consciencieusement mon manuscrit et aussi pour tous les échanges que nous avons eus concernant Geant4. Je remercie aussi Jacques Balosso, qui a trouvé le temps de le lire malgré un emploi du temps sur-chargé et qui a porté un grand intérêt à mon travail, Cécile Sicard-Roselli avec qui les échanges sur les nanoparticules ont été très enrichissants. Je remercie finalement Albert Lisbona qui représentait le corps de la physique médicale dont je suis issue et enfin Pierre Désesquelles, qui représentait l'Université Paris Sud. Quel plaisir d'avoir un retour si élogieux sur un travail pour lequel on a parfois du mal à prendre du recul ! Merci à vous.

Je dédie cette thèse à Mica, qui n'a pas eu la chance de soutenir la sienne... Et à Ben, qui a accepté la distance pendant ces trois ans et constitue ma plus grande raison d'avancer.

Résumé de la thèse

Une approche thérapeutique innovante utilisant l'adjonction d'éléments de numéro atomique élevé à une radiothérapie de basse énergie semble offrir une voie prometteuse pour le traitement des tumeurs cérébrales résistantes. Une telle technique est notamment développée sur la ligne médicale de l'ESRF (*European Synchrotron Radiation Facility*) [Adam 03, Adam 06]. Des résultats encourageants ont été obtenus en traitant des souris cancéreuses après injection de nanoparticules d'or (AuNP) [Hain 04]. Cependant, les processus physiques et l'impact biologique issus de la photoactivation de nanoparticules sont encore aujourd'hui mal compris et ne peuvent être expliqués par des calculs de doses macroscopiques [Cho 05, Zhan 09]. Le but de ce travail est d'évaluer par simulation Monte Carlo l'augmentation locale de dose en présence de nanoparticules ainsi que les caractéristiques des électrons secondaires produits. Dans un premier temps, des simulations ont été réalisées en utilisant une géométrie cellulaire, de manière à comparer les données simulées aux expérimentations menées à l'ESRF. Des tests de clonogénicité ont été réalisés pour mesurer le taux de radiosensibilité des cellules pour une irradiation de 4 Gy ($\text{SER}_{4\text{Gy}}$) en présence de gadolinium, pour différentes énergies d'irradiation (25 keV à 1250 keV). Ces études, expérimentales et numériques, ont permis l'évaluation de l'influence de la localisation du gadolinium au sein de la cellule et la forme de ce dernier (nanoparticules ou agent de contraste). D'autre part, une étude comparative a été menée pour caractériser le comportement d'une nanoparticule sous irradiation à une échelle nanométrique, en fonction de l'énergie de faisceau, du rayon de la nanoparticule et de l'élément lourd (or et gadolinium). Les expériences ont montré que les nanoparticules de gadolinium (GdNP) incubées 5 h avec les cellules étaient particulièrement efficaces par rapport aux nanoparticules non-incubées et au produit de contraste. Une part de la radiosensibilité semble être expliquée par une action biologique des GdNP sur le cycle cellulaire. Une autre part pourrait être attribuée à l'augmentation de dose (DEF) locale, très importante au voisinage des GdNP, mise en évidence à partir de cartes de DEF en deux dimensions. Cette augmentation s'élève de deux ordres de grandeur à quelques nanomètres de la surface de la nanoparticule et est principalement due à des électrons de haut transfert d'énergie linéique (< 5 keV). En modélisant le cas de nanoparticules réparties aléatoirement sur la membrane cellulaire (le plus proche du cas expérimental), nous avons montré qu'il existait une bonne corrélation entre le $\text{SER}_{4\text{Gy}}$ et le DEF calculé à la membrane. Par ailleurs, la comparaison des deux éléments a montré qu'une GdNP permettait de produire plus d'électrons (et de plus basse énergie) qu'une AuNP à masse égale, mais que le DEF local dû à une AuNP était plus important. Des résultats intéressants ont été obtenus en comparant le DEF local avec des résultats expérimentaux sur plasmides. Il semble cependant important de poursuivre ces études en prenant notamment en compte dans la modélisation les phénomènes physico-chimiques et chimiques postérieurs à l'irradiation.

Abstract

An innovative approach using X-ray interactions with heavy elements seems to open a promising way of treatment for resistant cancers, such as high-grade gliomas. Such a technique is developed at the medical beam line of ESRF using monochromatic X-rays in the 25-90 keV range for the treatment of brain tumors [Adam 03, Adam 06]. The use of gold nanoparticles (AuNP) to treat mice bearing subcutaneous tumors led to encouraging results [Hain 04]. However, the physical processes and biological impact of the photon activation of nanoparticles are not yet well understood. The experimental results cannot be explained by macroscopic dose calculations [Cho 05, Zhan 09]. The aim of this work was to evaluate, at the sub-cellular level, the dose enhancement in presence of nanoparticles and the properties of the secondary electrons production using Monte Carlo simulations. In a first step, simulations were performed using a cell geometry, in order to compare the simulated data to the experiments realized on the ID17 beamline of ESRF. Clonogenic assays have been performed on F98 cells to measure the «Sensitizer Enhancement Ratio» for an irradiation of 4 Gy (SER_{4Gy}) in the presence of gadolinium, for several beam energies (25 to 80 keV). These experimental and numerical studies were done to evaluate the influence of the gadolinium location within the cell and its shape (nanoparticles or contrast agent). On the other hand, a comparative study has been performed to evaluate the behavior of a nanoparticle under irradiation at a nanometer scale. Electron spectra have been studied for two heavy elements - gold and gadolinium - and several beam energies from 25 keV to 2 MeV. Experiments have shown that gadolinium nanoparticles (GdNP) incubated during 5 h with the cells were strongly effective compared to non-incubated nanoparticles and contrast agent, for the same concentration of gadolinium. A part of radiosensitivity could possibly be explained by a biological action of GdNP on the cell cycle. Another part could be attributed to the important dose enhancement factor (DEF) calculated in the vicinity of GdNP, highlighted from two-dimension DEF maps. The DEF can reach two orders of magnitude within a few nanometers of the GdNP surface and is mainly due to high-linear energy transfer electrons (< 5 keV). By modeling the case of nanoparticles randomly distributed on the cell membrane (closest to the experimental case), we showed that a good correlation exists between the SER_{4Gy} and the membrane DEF. On the other hand, the comparison of the two elements showed that GdNP could produce more electrons (of lower energy) than AuNP (with same mass), but that the local DEF due to AuNP was more important. Interesting results were obtained by comparing the local DEF with experimental results on plasmid DNA. However, it seems important to carry on these studies by taking into account the post-irradiation chemical processes in modeling.

Table des matières

Introduction	1
1 État de l'art et positionnement de la thèse	5
1.1 Historique et évolution de la radiothérapie par photoactivation de produits de contraste iodés	5
1.1.1 Découverte	5
1.1.2 Potentiel pour la radiothérapie	6
1.1.3 Essais précurseurs <i>in vivo</i>	9
1.1.4 Premier essai clinique	10
1.2 Faisceau monochromatique : travaux de l'équipe INSERM sur la ligne médicale ID17 de l'ESRF	12
1.2.1 Technique de la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron : RSRS	12
1.2.2 Agents de contraste iodés	14
1.2.2.1 Études de survies cellulaires	14
1.2.2.2 Études <i>in vivo</i> sur petit animal	16
1.2.2.3 Préparation aux essais cliniques	18
1.2.3 Agents pharmacologiques	20
1.2.3.1 Résultats obtenus avec l'IUdR	20
1.2.3.2 Résultats obtenus avec le cisplatine et le carboplatine	22
1.3 Photoactivation de nanoparticules d'or pour la thérapie	24
1.3.1 Études expérimentales portées sur la radiosensibilisation due aux AuNP	24
1.3.1.1 Expériences pionnières	24
1.3.1.2 Expériences <i>in vitro</i> récentes	25
1.3.1.3 Études de survie sur petit animal	29
1.3.1.4 Bilan concernant les nanoparticules d'or	35
1.3.2 Études réalisées par simulation Monte Carlo	35
1.3.2.1 Travaux considérant un mélange homogène or-eau	36
1.3.2.2 Travaux considérant la forme des nanoparticules	41
1.4 Inscription du travail de thèse dans l'état de l'art	47
2 Matériels et méthodes	51
2.1 Bases physiques : interactions particules-matière	51
2.1.1 Effet radiobiologique : de l'interaction primaire à la mort cellulaire	52
2.1.2 Interactions des photons	53

TABLE DES MATIÈRES

2.1.2.1	Les différents processus collisionnels induits par les photons	53
2.1.2.2	Domaine de prédominance des interactions	55
2.1.3	Interactions des électrons	56
2.1.4	Relaxations atomiques	58
2.1.4.1	Processus de relaxation	58
2.1.4.2	Probabilités de relaxation	59
2.1.5	Grandeurs dosimétriques	60
2.1.5.1	Dose absorbée	60
2.1.5.2	Section efficace	60
2.1.5.3	Coefficients d'atténuation et d'absorption massique . .	61
2.1.5.4	Parcours des électrons et pouvoir d'arrêt	62
2.1.5.5	Considérations radiobiologiques	64
2.2	Méthodes expérimentales	65
2.2.1	Caractéristiques des agents radiosensibilisants utilisés à base de gadolinium	65
2.2.2	Modèle cellulaire et internalisation des nanoparticules	66
2.2.3	Méthode de clonogénicité en présence de gadolinium	68
2.2.3.1	Test clonogénique et survie cellulaire	69
2.2.3.2	Protocole expérimental en présence de gadolinium . . .	70
2.2.4	Expériences réalisées avec de l'or	73
2.2.5	Comparaisons statistiques	73
2.3	Les codes Monte Carlo	74
2.3.1	Introduction générale sur la méthode de Monte Carlo	74
2.3.2	Transport des photons	75
2.3.3	Transport des électrons	75
2.3.4	Les différents codes Monte Carlo utilisés dans le domaine médical	76
2.3.5	PENELOPE	78
2.3.5.1	Description du code et bases de données	78
2.3.5.2	Paramètres de simulation	79
2.3.5.3	Réduction de variance : <i>Forced</i>	80
2.3.5.4	Avantages et limites du code	80
2.3.6	Geant4	81
2.3.6.1	Fonctionnement général du code	82
2.3.6.2	Physique de basse énergie et paramètres utilisés	83
2.3.6.3	Avantages et limites de Geant4	85
2.4	Bilan	85
3	Résultats : autour de la cellule	87
3.1	Introduction	87
3.2	Résultats expérimentaux	88
3.2.1	Contexte et présentation générale des résultats	88
3.2.2	Analyse des résultats obtenus en présence de Magnevist®	89
3.2.3	Analyse des résultats obtenus en présence de GdNP	91

3.2.4	Bilan des résultats expérimentaux	92
3.3	Simulation : cas du gadolinium homogène	92
3.3.1	Modèle géométrique unicellulaire	92
3.3.2	Comparaison des doses avec matériaux biologiques	94
3.3.3	Étude des doses moyennes	96
3.3.3.1	En fonction de la localisation du gadolinium	96
3.3.3.2	Influence de la taille du volume d'irradiation	100
3.3.4	Étude des spectres d'électrons arrivant sur le noyau	103
3.3.5	Gadolinium homogène : ce que l'on peut en tirer	107
3.4	Simulation : étude de la forme du gadolinium	108
3.4.1	Prise en compte des nanoparticules à l'échelle cellulaire	108
3.4.1.1	Validation de Geant4 par rapport à PENELOPE	108
3.4.1.2	Résultats des DEF moyens avec les GdNP : Geant4	110
3.4.2	Étude de l'hétérogénéité de la dose	113
3.4.2.1	Géométrie des cas étudiés	113
3.4.2.2	Comparaison des DEF moyens	116
3.4.2.3	Comparaison des cartes de dépôt de dose dans la cellule	119
3.4.3	Bilan quant à la prise en compte des nanoparticules	121
3.5	Bilan général de l'étude cellulaire	123
4	Résultats : autour de la nanoparticule	125
4.1	Introduction	125
4.2	Étude des spectres	126
4.2.1	Géométrie utilisée	126
4.2.2	Spectres photons et électrons émis par une NP	127
4.2.3	Évolution en fonction de l'énergie du faisceau	130
4.2.4	Influence de la taille de la nanoparticule	131
4.2.5	Bilan de l'étude des spectres	135
4.3	Dose déposée autour d'une NP à l'échelle nanométrique	136
4.3.1	Géométrie utilisée	136
4.3.2	Profils de dose	136
4.3.3	Étude du DEF en fonction de l'énergie de faisceau	139
4.3.4	Étude du DEF en fonction de la taille de la NP	140
4.3.5	Bilan de l'étude de dose locale	143
4.4	Comparaison avec des données expérimentales	144
4.5	Bilan de l'étude locale autour de la nanoparticule	148
	Conclusion générale et perspectives	151
	Annexes	175
A	Tables de données et formules	175
A.1	Caractéristiques des éléments	175
A.1.1	Propriétés physiques	175

TABLE DES MATIÈRES

A.1.2	Énergies de liaison	175
A.1.3	Taux de relaxation radiative et non-radiative	175
A.1.4	Tables de production des rayonnements de fluorescence	177
A.1.5	Nomenclature des transitions atomiques	177
A.2	Formule de Bethe et Bloch	179
B	Figures complémentaires	181
B.1	Analyse des spectres	181
B.1.1	Spectres d'électrons arrivant au noyau cellulaire	181
B.1.2	Spectres photons et électrons : GdNP	182
B.1.3	Spectres d'électrons : fonction de la taille d'une GdNP	183
B.1.4	Analyse quantitative des spectres : fonction de la taille	183
B.2	Analyse des doses	185
B.2.1	Profils de dose autour d'une GdNP : fonction de l'énergie de faisceau	185

Liste des Abréviations

1D/2D/3D	Mono/Bi/Tri-Dimensionnel
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
ANR	Agence Nationale de la Recherche
AuNP	Nanoparticules d'or
CDB	Cassures Double-Brin
CEA	Commissariat à l'Énergie Atomique et aux énergies alternatives
CSB	Cassures Simple-Brin
CTR_x	Computerized Tomography Scanner (x pour x-rays)
DEF	Dose Enhancement Factor
EF	Enhancement Factor
ESRF	European Synchrotron Radiation Facility
eV	Électron-Volt
GdNP	Nanoparticules de Gadolinium
GEANT	GEometry ANd Tracking
IC	Intracarotidien
ICP-MS	Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometry
ICRU	International Commission on Radiation Units and Measurements
INSERM	Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique
IUdR	5-iodo-2'-désoxyuridine
IV	Intraveineux
kVp	Kilo-Voltage
LINAC	LINear ACcelerator
LIST	Laboratoire d'Intégration des Systèmes et des Technologies
LM2S	Laboratoire de Simulation et Modélisation des Systèmes
MC	Monte Carlo
MV	Mega-Voltage
NP	Nanoparticules
NIST	National Institute of Standards and Technology
PCI	Produit de Contraste Iodé

LISTE DES ABRÉVIATIONS

PBS Phosphate Buffered Saline

PENELOPE PENetration and Energy LOss of Positrons and Électrons

RBE Relative Biological Effectiveness

RSRS Radiothérapie Stéréotaxique par Rayonnement Synchrotron

RX Rayons-X

SER Sensitizer Enhancement Ratio

TEL Transfert d'Énergie Linéique

Z Numéro atomique d'un élément

Introduction

Les tumeurs primitives du système nerveux central représentent seulement quelques pourcents des cancers de l'adulte mais leur pronostic demeure encore aujourd'hui très pessimiste. Le glioblastome en est la forme la plus fréquente et la plus agressive. Malgré une recherche active sur ce type de tumeurs, aucun traitement n'a pu démontrer à ce jour de réelle efficacité curative. Une revue de Wen et Kesari [Wen 08] résume les différentes options cliniques pour le traitement de ce type de cancer chez l'adulte. Le traitement actuel standard est une chirurgie (quand celle-ci est possible) suivie d'une radio-chimiothérapie avec le temozolomide pour lequel la survie médiane est approximativement de 15 mois [Stup 09]. Une raison de récurrence systématique du glioblastome est son aspect très diffus et invasif rendant son contrôle local compliqué.

Une solution novatrice de traitement, combinant une radiothérapie par rayons X de qualité diagnostique avec l'adjonction d'éléments lourds dans la tumeur, semble offrir une voie prometteuse visant à obtenir un effet différentiel entre la tumeur et les tissus sains le plus élevé possible. En particulier, un programme de recherche est réalisé depuis 10 ans sur la ligne biomédicale de l'ESRF (European Synchrotron Radiation Facility, Grenoble) portant sur le développement de cette technique pour la thérapie préclinique des tumeurs cérébrales en utilisant le rayonnement synchrotron comme source de radiothérapie.

Le principe physique de cette thérapie est d'utiliser un faisceau de rayons X de basse énergie (quelques dizaines à quelques centaines de keV) et d'irradier une tumeur préalablement chargée en éléments de numéro atomique élevé (tels que l'iode, l'or, le gadolinium ou le platine). Cette combinaison permet d'utiliser l'importante différence d'absorption des RX de basse énergie dans ces matériaux par rapport aux tissus sains non chargés.

La Figure 1 illustre l'intérêt de travailler avec ces basses énergies, pour un effet différentiel maximum, avec une représentation des rapports de coefficients d'absorption massique des rayons-X dans des matériaux lourds (Au ou Gd) par rapport à l'eau (base de donnée du NIST [Hubb 96]). Nous pouvons voir que des énergies de 20 à 100 keV permettent une augmentation de l'absorption des RX dans les éléments lourds d'un facteur 70 à 160 par rapport à l'absorption des mêmes rayonnements dans l'eau.

Cette méthode a pour but de créer un plus grand nombre d'électrons au sein de la tumeur et ainsi d'augmenter le dépôt d'énergie local. La distribution sélective de l'agent de contraste entre la tumeur et les tissus sains est possible dans le cerveau car au niveau d'une tumeur cérébrale vascularisée, la barrière hémato-encéphalique est partiellement lésée et laisse passer les macromolécules.

De nombreuses observations lors d'expériences *in vivo* et *in vitro* ont montré un

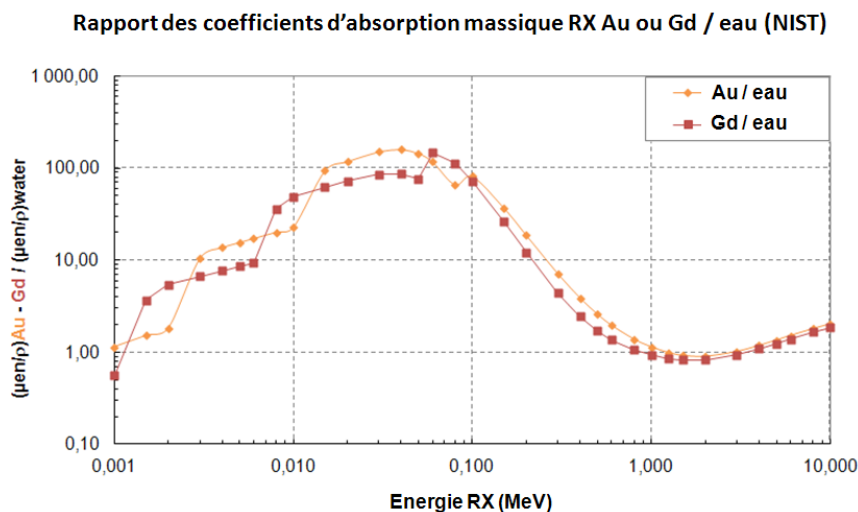


Figure 1: Représentation des rapports de coefficients d'absorption massique des RX pour deux éléments lourds relativement à l'eau liquide, pour des RX d'énergie 1 keV jusqu'à 10 MeV

« effet de dose » différentiel significatif, notamment en utilisant les éléments lourds sous la forme de nanoparticules. L'une des études *in vivo* les plus marquantes, faite en 2004, avait démontré que 86 % de souris cancéreuses pouvaient survivre suite à un traitement en présence de nanoparticules d'or, comparé à seulement 20 % pour celle ayant seulement reçu une irradiation [Hain 04].

Cependant, les effets physico-chimiques et les dommages complexes causés à l'échelle cellulaire dus à la présence de ces éléments lourds sont mal connus. Des exemples d'études dosimétriques qui ont reproduit l'expérience de Hainfeld *et al.* ont montré que la considération macroscopique de la dose n'était pas suffisante pour expliquer les dommages radiobiologiques observés [Cho 05, Zhan 09]. Ces études sont décrites plus en détail dans le premier chapitre.

Ces considérations ont mené à cibler les objectifs du présent travail sur la modélisation des phénomènes physiques susceptibles d'être liés à un tel impact radiobiologique. Dans ce contexte, les simulations Monte Carlo apparaissent extrêmement bien adaptées pour modéliser précisément les interactions des photons et des électrons à une échelle sub-micrométrique en présence d'éléments lourds. Nous nous sommes intéressé plus particulièrement aux nanoparticules d'or et de gadolinium.

Il s'agit ici d'un travail de collaboration entre différents laboratoires de recherche dans le cadre d'un projet ANR démarré en 2011 : « Raphaelo ». La collaboration inclut le Laboratoire de Modélisation et Simulation des Systèmes (LM2S, du CEA, LIST à Saclay), laboratoire d'accueil de la thèse, l'équipe INSERM travaillant sur la ligne biomédicale de l'ESRF (Grenoble) et le Laboratoire des Lésions d'Acide Nucléique (LAN, CEA de Grenoble).

Cette thèse est dirigée par Christophe Champion (Centre d'Études Nucléaires de Bordeaux Gradignan), spécialiste des interactions des électrons de très basse énergie, encadrée par Mathieu Agelou du LM2S pour le suivi quotidien de l'avancement

du travail de simulation, et co-dirigée par Hélène Elleaume (INSERM) pour l'aspect expérimental de la thèse, afin d'appliquer les simulations à un cas concret clinique.

Le premier chapitre de ce manuscrit constitue une revue bibliographique menant à l'inscription du travail de thèse dans l'état de l'art. Le deuxième est une description des bases physiques nécessaires à la compréhension de la thèse, des méthodes expérimentales et des codes utilisés pour réaliser les calculs Monte Carlo.

Les deux chapitres suivants résument les résultats de simulation. La présentation des résultats a été faite en fonction de l'échelle utilisée pour la description des phénomènes physiques associés aux nanoparticules. Le chapitre 3 a porté sur la modélisation des interactions à l'échelle cellulaire (échelle micrométrique), afin de confronter les résultats avec les survies cellulaires obtenues expérimentalement en présence gadolinium. Des dépendances en fonction de la localisation du gadolinium dans la cellule et de l'énergie du faisceau d'irradiation ont pu être étudiés dans cette partie. Nous sommes ensuite descendus à une échelle inférieure de simulation (nanométrique), dans le chapitre 4, de manière à préciser l'influence locale d'une nanoparticule en termes de dose et de particules secondaires créées. Les dépendances en fonction de l'énergie du faisceau et de la taille des nanoparticules ont pu être étudiées. Une comparaison avec des données expérimentales *in vitro* a aussi été faite dans cette partie, en présence cette fois de nanoparticules d'or.

Le code principalement utilisé dans cette thèse est PENELOPE. Ce code fait référence dans le domaine de la physique médicale et fait l'objet d'une grande expertise au LM2S. La simulation de nombreuses nanoparticules à l'échelle cellulaire a été faite avec un code Monte Carlo mieux adapté aux géométries complexes, le code Geant4.

Chapitre 1

État de l'art et positionnement de la thèse

Sommaire

1.1 Historique et évolution de la radiothérapie par photoactivation de produits de contraste iodés	5
1.1.1 Découverte	5
1.1.2 Potentiel pour la radiothérapie	6
1.1.3 Essais précurseurs <i>in vivo</i>	9
1.1.4 Premier essai clinique	10
1.2 Faisceau monochromatique : travaux de l'équipe IN-SERM sur la ligne médicale ID17 de l'ESRF	12
1.2.1 Technique de la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron : RSRS	12
1.2.2 Agents de contraste iodés	14
1.2.3 Agents pharmacologiques	20
1.3 Photoactivation de nanoparticules d'or pour la thérapie	24
1.3.1 Études expérimentales portées sur la radiosensibilisation due aux AuNP	24
1.3.2 Études réalisées par simulation Monte Carlo	35
1.4 Inscription du travail de thèse dans l'état de l'art	47

1.1 Historique et évolution de la radiothérapie par photoactivation de produits de contraste iodés

1.1.1 Découverte

L'effet des éléments lourds sur le vivant sous rayonnement diagnostique (<150 keV) a été découvert dans les années 70 chez des patients ayant subi un examen radiologique long, avec injection de produit de contraste iodé (PCI).

Des aberrations chromosomiques (micronoyaux) ont en effet été observées sur des lymphocytes (globules blancs) prélevés sur des patients après une angiographie car-

diague [Norm 78a, Adam 77] ou après une urographie [Coch 80]. Dans le cas d'angiographies cardiaques pédiatriques, la dose absorbée dans le sang a été estimée - pour huit cas d'enfants - à partir de mesures d'expositions et de calculs tenant compte de la concentration en iode. Une augmentation de dose allant jusqu'à un facteur 3 en présence du produit de contraste a été constatée [Call 79]. Ce résultat permet de penser que la présence de cet agent est l'une des causes de la création d'aberrations chromosomiques. Les auteurs ont aussi montré, ainsi que Dawson *et al.* [Daws 87], qu'une telle augmentation n'avait pas lieu si la source était remplacée par des rayons gamma de l'ordre du MeV (source de cobalt). L'augmentation de dose est donc due à l'augmentation de la section efficace d'effet photoélectrique en présence d'atomes d'iode, notamment aux basses énergies. Par ailleurs, d'autres études montrent que les lésions peuvent être produites en partie chimiquement à cause du produit de contraste lui-même [Adam 77, Coch 82] et plus particulièrement d'impuretés présentes dans ces agents, tels que les arylamines [Deim 09]. Cet effet n'est cependant visible que pour des doses en agent de contraste beaucoup plus élevées que les doses cliniques.

1.1.2 Potentiel pour la radiothérapie

Les études décrites ci-dessus ont montré que la dose absorbée par les cellules augmente en présence d'agent de contraste iodé lorsqu'elles sont irradiées avec un faisceau de rayons X (RX) de basse énergie. L'idée est par la suite venue d'utiliser cette sensibilité au profit d'une technique de radiothérapie s'appuyant sur un effet différentiel entre les cellules irradiées à proximité de l'agent de contraste (les cellules tumorales) et les tissus sains.

Afin d'explorer les effets thérapeutiques potentiels de l'augmentation de dose aux tissus perfusés en iode, Mello *et al.* [Mell 83] ont étudié, dans un premier temps, l'influence de la concentration en agent de contraste (Renografin) puis de l'énergie d'irradiation sur des cultures cellulaires. Mesurant les taux de micronoyaux et de dommages chromosomiques, des facteurs d'augmentation de la radiosensibilité compris entre 2 et 3 ont été obtenus pour des énergies effectives inférieures à 120 keV et pour les concentrations en produit de contraste les plus élevées. Ils en ont conclu que l'augmentation de l'effet biologique des radiations en présence d'agent de contraste était provoquée par l'augmentation de la production d'électrons secondaires.

Pour illustrer l'apport potentiellement bénéfique de cette technique par rapport à un traitement de radiothérapie classique, Mello *et al.* ont étudié le cas du cancer du cerveau, calculant les rendements en profondeur à partir d'images scanner de deux patients. La comparaison s'est faite entre un faisceau de RX d'énergie effective 60 keV avec une tumeur contenant de l'iode (4 mg/ml) et un faisceau de Cobalt (1,25 MeV sans iode dans la tumeur) (cf Figure 1.1). Ils démontrent alors que pour une même dose dans la tumeur, la combinaison RX-iode permet de mieux épargner les tissus cérébraux sains autour de la tumeur que le faisceau de Cobalt, le problème étant néanmoins l'augmentation de dose à l'os. Ils soulignent cependant un point : celui de s'assurer que la concentration en iode dans la tumeur reste suffisante et pendant toute

la durée de l'irradiation pour conserver un effet différentiel favorable.

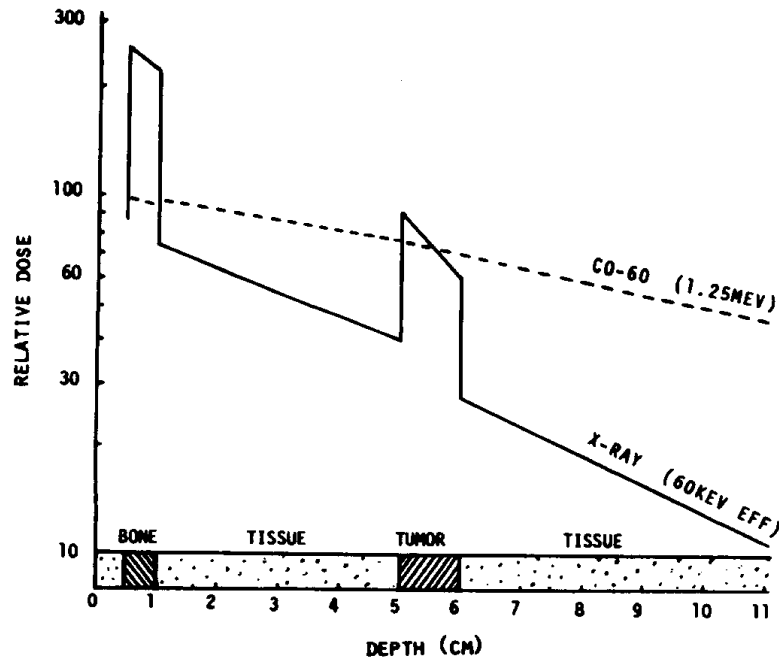


Figure 1.1: Comparaison de rendements en profondeur dans un cerveau pour deux types de rayonnement : 60 keV pour une tumeur perfusée avec 4 mg/ml d'iode (trait plein) et 1,25 MeV sans iode (pointillé) [Mell 83]

Cette étude a donc permis de démontrer le potentiel bénéfique de l'utilisation d'un rayonnement X de basse énergie, combiné avec l'injection d'un élément lourd, comparé à un traitement de radiothérapie classique. Les auteurs ont aussi soulevé les principales problématiques de la technique :

- une forte dépendance de l'augmentation de dose en fonction de la qualité de faisceau et de la concentration en iode,
- la nécessité de garder cette concentration suffisante dans la tumeur et stable pendant toute la durée de l'irradiation,
- la forte absorption de l'os aux basses énergies.

En 1992, Solberg *et al.* [Solb 92] vont un peu plus loin dans l'étude du facteur d'augmentation de dose (DEF, pour *Dose Enhancement Factor*) en faisant une comparaison entre des calculs réalisés par simulation Monte Carlo (code MCNP4) et des données expérimentales. Pour les calculs, des qualités de faisceaux allant de 80 à 250 kV ont été comparées, avec une géométrie semblable à celle d'un crâne humain contenant une tumeur chargée en iode, les concentrations allant de 0 à 80 mg/ml. Les DEF dans la tumeur ont été déterminés à partir du rapport des rendements en profondeur au niveau de la tumeur avec ou sans iode, comme montré en exemple sur la Figure 1.2-A. La mesure expérimentale du DEF a été obtenue, comme dans l'étude précédente, en termes de taux d'apparition de micronoyaux dans des cultures cellulaires, comparant les mêmes

concentrations et deux faisceaux RX différents, de 140 et 250 kV. Les résultats obtenus montrent que le DEF expérimental est proportionnel à la concentration et qu'il dépend de la qualité de faisceau utilisé (cf. Figure 1.2-B).

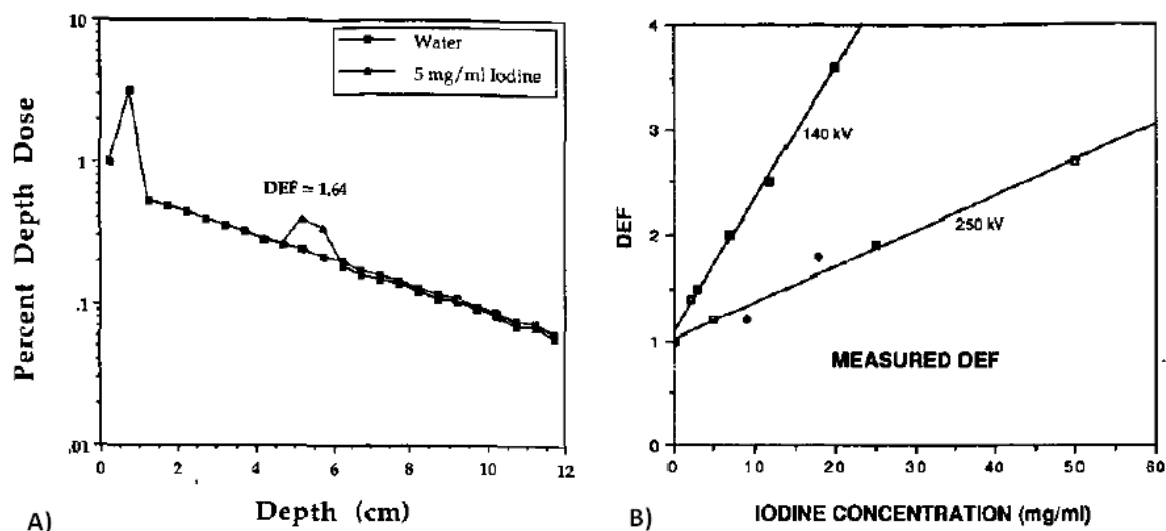


Figure 1.2: A : Dose en fonction de la profondeur calculée sur l'axe (exemple d'un faisceau RX de 200 kV et de 5 mg/ml d'iode). B : DEF mesuré pour des cellules en suspension dans un milieu avec différentes concentrations en iode pour deux énergies de faisceau [Solb 92]

Les DEF calculés par Monte Carlo ont aussi été comparés à des données expérimentales préalables [Mats 80, Mell 83, Daws 87, Norm 91]. Les résultats décrits dans la Figure 1.3 montrent de bonnes corrélations entre la mesure et le calcul.

kV	80	100	120	140	200	250	
Calculated	1.98	—	1.90	1.83	1.64	—	^a Mello <i>et al</i> (1983).
Measured	—	1.9 ^a	1.7 ^a	1.7 ^b	1.4 ^c	1.2 ^d	^b Norman <i>et al</i> (1991).
							^c Matsudaira <i>et al</i> (1980).
							^d Dawson <i>et al</i> (1987).

Figure 1.3: Comparaison de facteurs d'augmentation de dose calculés et mesurés à différentes énergies et pour une concentration en iode de 5 mg/ml [Solb 92]

Les auteurs ont ainsi montré dans cette étude qu'ils pouvaient corréler le calcul Monte Carlo (MC) au DEF mesuré et ont étudié l'évolution de cette grandeur en fonction de la concentration et de l'énergie effective du faisceau. Une suggestion est apparue en perspective de cette étude concernant l'utilisation d'un faisceau monochromatique comme une solution potentielle pour obtenir un DEF plus élevé. Nous verrons dans la suite que cette idée a bien été reprise avec l'utilisation d'un synchrotron comme source de rayonnement (cf. section 1.2).

1.1.3 Essais précurseurs *in vivo*

Après les différentes démonstrations du bénéfice apporté par l'utilisation d'agents de contrastes en radiothérapie, une série d'essais précliniques sur le petit animal a été réalisée afin de s'assurer de la sûreté de son utilisation sur des êtres vivants.

Une première étude *in vivo* a été réalisée en 1983 sur un modèle de souris porteuses de tumeurs sous-cutanées (cellules Ehrlich ascites) [Mell 83]. Trois groupes de souris ont été constitués : un témoin, injecté de produit de contraste sans irradiation, un autre ayant subi une irradiation de 20 Gy répartis selon le standard de traitement en radiothérapie (10 fractions de 2 Gy, une fraction par jour, 5 jours par semaine) avec un tube RX de 100 kVp et un dernier ayant subi la même irradiation avec injection de produit de contraste avant chaque fraction. L'injection est faite directement dans le cerveau, afin d'augmenter la concentration en iode dans la tumeur par rapport à une injection intraveineuse (cf. modes d'injection en section 1.2.2.2.1).

Le troisième groupe a montré une excellente réponse au traitement avec 80 % de régression totale et 15 % de régression partielle de la tumeur contre seulement 10 % de régression partielle et aucune régression totale pour le second groupe.

Cinq ans plus tard, une seconde étude marquante fut réalisée par Iwamoto *et al.* [Iwam 87], validant l'efficacité de la technique sur un modèle *in vivo* plus complexe de tumeurs cérébrales implantées dans le cerveau de lapins (carcinome VX-2). Des résultats significatifs ont été obtenus avec une augmentation de la survie moyenne de 51 % (38,5 jours) du groupe irradié et injecté en produit de contraste iodé (15 Gy en 3 fractions, tube RX 120 kVp et injection de 3,5 g d'iode par kg de tissu) par rapport au groupe irradié (survie moyenne de 25,5 jours). Ils ont aussi montré, avec un groupe témoin, que l'injection répétée d'iode n'affectait pas les reins des lapins, résultat important quant à la non-toxicité du traitement.

La méthode a par la suite été optimisée à l'aide d'un scanner modifié, le CTRx, pouvant être utilisé à la fois pour le diagnostique et pour le traitement [Iwam 90]. Cet appareil permettait, contrairement au tube RX, d'irradier la tumeur en mode tomographique sur 360°, permettant ainsi de concentrer géométriquement la dose à la tumeur en diminuant celle aux tissus sains environnants.

Un essai préclinique a ensuite été réalisé dans la continuité des travaux avec le CTRx, sur des chiens atteints de tumeurs spontanées du cerveau [Iwam 93]. Les résultats de l'étude ont été publiés en 1997 par Norman *et al.* [Norm 97], mettant en évidence une augmentation de la durée de vie moyenne de 53 % (230 jours) par rapport au groupe de contrôle, sans traitement (150 jours). Par ailleurs, ils ont montré que cette augmentation était comparable à celle obtenue avec un accélérateur linéaire conventionnel pour une dose équivalente à la tumeur (après avoir pris en compte l'augmentation de dose liée à l'iode). Aucun effet secondaire dû au traitement ni lésions de tissus autre que dans le volume tumoral n'ont pu être observés.

Par ailleurs, une étude de la distribution de dose a été faite par simulation MC (MCNP4) dans un modèle cérébral avec une tumeur chargée en iode et

centrée [Norm 97]. La Figure 1.4 représente la distribution de dose en fonction de la distance radiale à partir de la tumeur pour une rotation de 360° du CTRx et en comparant différents cas de traitement.

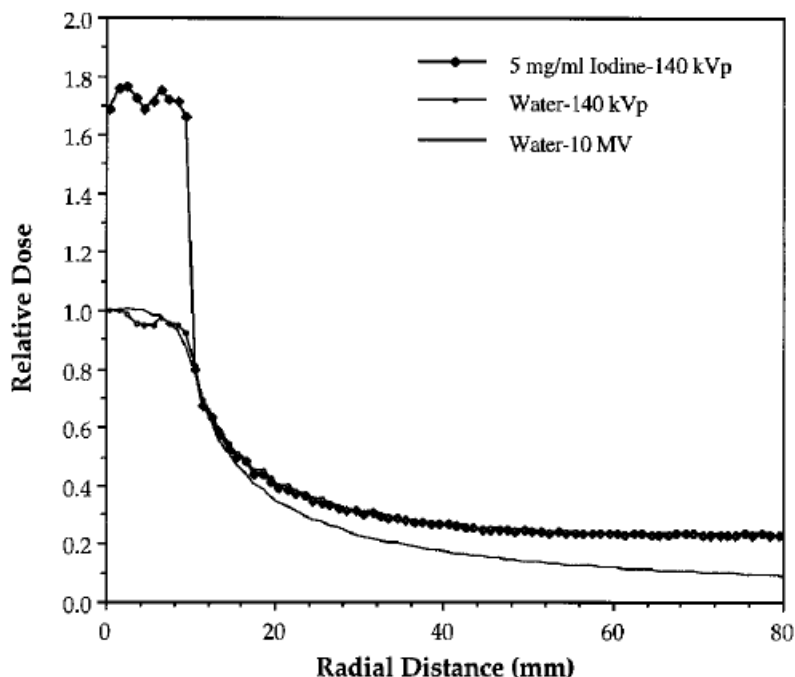


Figure 1.4: Distribution de dose calculée pour une seule rotation du CTRx à 140 kV, avec et sans iode dans la tumeur. Comparaison avec un faisceau de 10 MV provenant d'un accélérateur linéaire, sans injection d'iode [Norm 97]

Ce modèle montre que les profils de dose dans l'eau sont assez similaires pour les deux faisceaux avec toutefois une augmentation de dose d'environ 15 % à 8 cm de la tumeur avec le CTRx. Mais nous pouvons voir que le cas du CTRx, combiné avec l'ajout de 5 mg/ml d'iode dans la tumeur, permet presque de doubler la dose au volume cible par rapport au traitement classique. Les auteurs concluent alors, en accord avec les études précédentes, que cette technique permet de mieux préserver les tissus sains pour un même contrôle tumoral, laissant ainsi envisager le passage à la clinique dans le cas de localisations peu profondes.

1.1.4 Premier essai clinique

Suite à ces résultats concluants, un essai thérapeutique de phase I a pu être mené (autour du CTRx) avec le traitement de huit patients atteints de métastases cérébrales multiples [Rose 99].

Tous les patients ont d'abord reçu 40 Gy en irradiation totale du cerveau avec un faisceau de radiothérapie de 6 MV et un fractionnement standard. Puis, une seule métastase pour chaque patient a été irradiée à 25 Gy (5 fractions de 5 Gy étalées sur

5 semaines) avec le CTRx, les autres métastases servant de témoins. Les 25 Gy correspondent à la dose effective, considérant déjà l'augmentation liée au produit de contraste. L'iode a été diffusé en continu (1 à 2 ml de produit de contraste par kg) au cours de l'irradiation pour obtenir une quantité d'iode suffisante à la tumeur (5 mg d'iode/ml), l'irradiation CTRx étant relativement longue pour atteindre 5 Gy (environ 45 min).

Les résultats ont été encourageants : deux métastases sur huit ont disparu et une seule n'a pas régressé, alors que le volume de la tumeur de contrôle a augmenté ou est resté constant depuis la fin du traitement standard. De plus, aucun patient n'a manifesté la présence d'effets délétères dus à l'addition des 25 Gy (réaction des tissus cérébraux, nécrose des os...).

Les distributions de dose ont aussi été étudiées par simulation MC (MCNP4), d'après le scanner d'un des patient [Mesa 99], afin d'optimiser le traitement en termes de concentration en iode dans la tumeur et de protection des tissus sains par rapport à un traitement standard. Les distributions de dose obtenues ont montré que le CTRx épargnait aussi bien (5 mg/ml) voire mieux (à partir de 10 mg/ml) les tissus sains qu'une irradiation standard à 10 MV, pour une même couverture de la tumeur (cf. Figure 1.5).

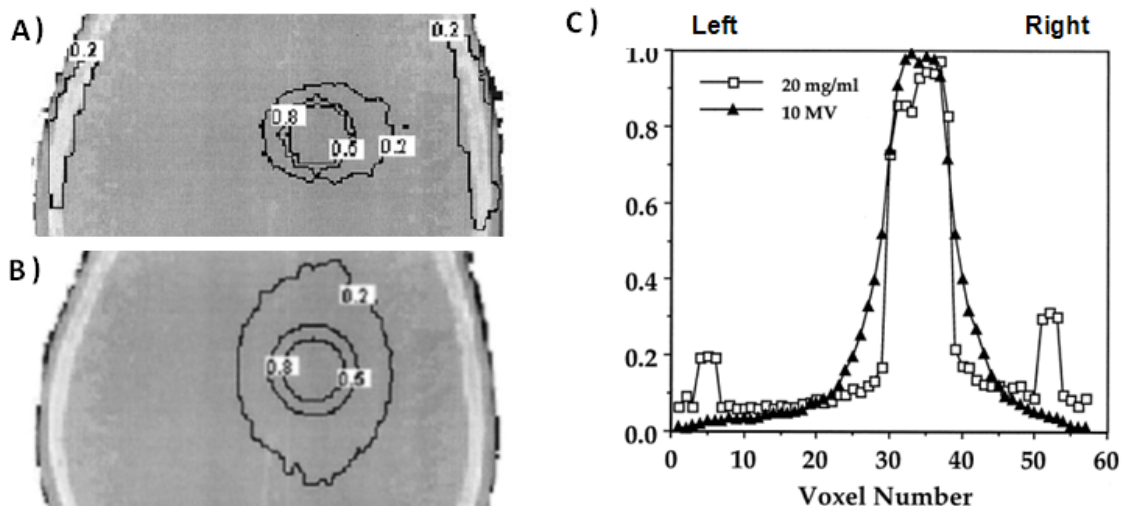


Figure 1.5: A et B : Distributions de dose relatives par rapport au maximum dans un modèle de tumeur du cerveau, respectivement avec irradiation au CTRx à 140 kV (10 mg/ml) et avec un faisceau de 10 MV. C : Comparaison des profils de dose obtenus avec le CTRx (20 mg/ml) et avec un faisceau de 10 MV [Rose 99]

Dans cette étude, Rose *et al.* ont montré que le traitement combinant une injection d'agent de contraste iodé et une irradiation avec le CTRx, était sûr pour le patient et potentiellement bénéfique. Les études cliniques avec le CTRx n'ont néanmoins pas été poursuivies, la technologie du tube à rayons X utilisé n'étant pas adaptée aux irradiations longues et continues, nécessaires pour la thérapie de tumeurs relativement profondes.

Plus récemment, un prototype de scanner adapté à la radiothérapie a été développé par une équipe allemande à partir d'un scanner classique de la société Siemens® [Jost 08, Jost 09]. Un module optique placé à la sortie du tube RX permet de focaliser le faisceau RX et de sélectionner préférentiellement la raie d'émission K_α du tungstène (59,3 keV). Ce système permet d'obtenir un faisceau quasi-monochromatique autour de 59 keV (largeur à mi-hauteur de 5 keV) et plus intense au point focal que pour un faisceau classique polychromatique utilisé en imagerie. Ce prototype constitue donc un système d'irradiation prometteur pour l'application de la radiothérapie par photoactivation d'élément lourd. Cependant, aucun appareil de ce type n'a encore été commercialisé à notre connaissance. Les appareils d'irradiation existant pour le traitement à basse énergie sont seulement utilisés pour les irradiations superficielles et intracavitaires.

1.2 Faisceau monochromatique : travaux de l'équipe INSERM sur la ligne médicale ID17 de l'ESRF

À la suite des travaux menés par l'équipe de Norman *et al.*, l'étude et le développement de cette thérapie innovante ont été poursuivis par l'équipe INSERM travaillant sur la ligne médicale du Synchrotron de Grenoble, plus particulièrement pour le traitement des gliomes de haut grade. L'utilisation d'un faisceau monochromatique permet d'améliorer l'effet différentiel entre les tissus tumoraux et sains en sélectionnant l'énergie du rayonnement la plus appropriée. Un tel faisceau permet aussi de supprimer les problèmes liés à la présence de photons de basse énergie dans le spectre et de diminuer ainsi la dose à l'os par rapport aux faisceaux polychromatiques fournis par les tubes RX. Le faisceau synchrotron, avec son très haut débit, est donc particulièrement bien adapté à la radiothérapie par photoactivation d'éléments lourds et à l'optimisation de celle-ci.

1.2.1 Technique de la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron : RSRS

La ligne biomédicale ID17 de l'ESRF se décompose en deux sous-unités prévues pour fonctionner en alternance (cf. Figure 1.6) :

- la première, proche de l'anneau de stockage, permet d'utiliser le faisceau « blanc » et sa très grande brillance principalement pour les expériences de thérapie par microfaisceaux (MRT : Microbeam Radiation Therapy),
- la seconde se situe dans un bâtiment satellite à 150 m de la source afin d'obtenir une largeur de faisceau adéquate pour imager et irradier des échantillons de taille importante, comme c'est le cas en recherche médicale (thorax, crâne). Elle fonctionne après monochromatisation du faisceau. Elleaume *et al.* [Elle 99] décrivent l'instrumentation particulière qui a été conçue pour les besoins

spécifiques de cette ligne.

C'est dans cette seconde sous-unité qu'est développée la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron pour la photoactivation d'éléments lourds. Les simulations qui ont été réalisées au cours de la thèse ont été orientées vers les expériences réalisées dans cette unité.

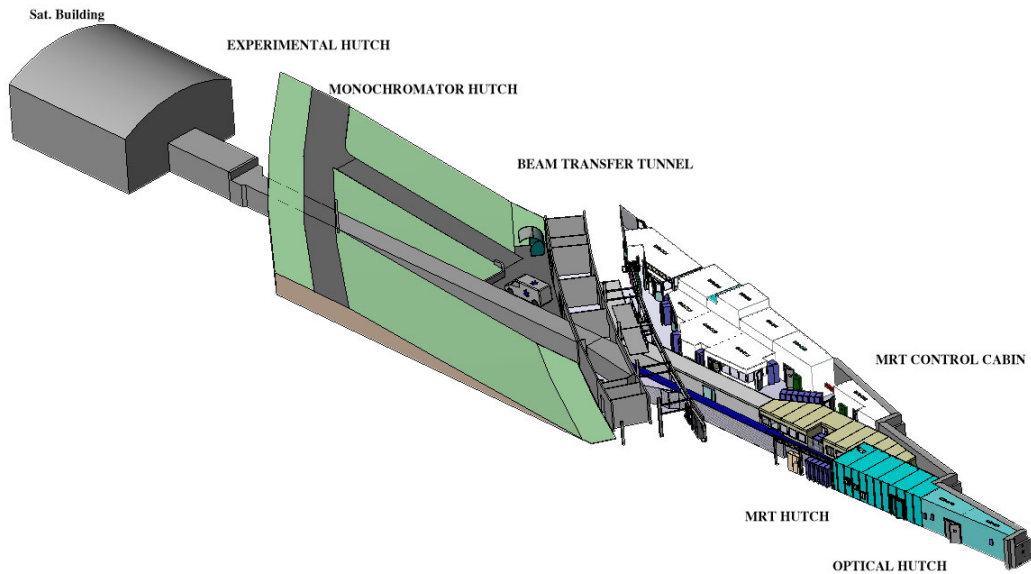


Figure 1.6: Vue générale de la ligne ID17 de l'ESRF

Notons tout d'abord que le terme d'« irradiation stéréotaxique » est utilisé pour décrire les techniques d'irradiations localisées, pouvant délivrer une dose de radiations ionisantes élevée de façon très précise sur un petit volume cible. Ce type d'irradiation nécessite un système de contention du patient adapté pour limiter au maximum les mouvements pendant l'irradiation (cadre stéréotaxique) ainsi qu'un système d'imagerie permettant de positionner le plus précisément possible le patient dans le faisceau.

La très grande intensité du rayonnement synchrotron (environ 10^6 fois plus grande que pour une source de RX conventionnelle) et sa continuité sur une large gamme spectrale permettent d'extraire un rayonnement monochromatique (largeur spectrale de quelques dizaines d'électronvolts) tout en conservant une intensité conséquente.

La salle d'expérimentation contient en son centre un système de positionnement composé d'une plateforme qui peut réaliser des translations horizontales, verticales et une rotation selon l'axe vertical. Le faisceau d'irradiation arrive dans la salle horizontalement par une fente de dimension maximale à l'isocentre de 15 cm de largeur et de 2 mm de hauteur. Un détecteur au germanium placé au fond de la salle permet de réaliser une image tomographique de l'objet à irradier en faisant tourner la plateforme sur 360° , assurant ainsi un positionnement précis de la tumeur par rapport au faisceau. Une estimation de la dose délivrée à la tumeur peut être faite par quantification de

l'agent de contraste éventuellement présent dans le cerveau à l'aide d'un monochromateur bi-énergie de part et d'autre du seuil K de l'élément (cf. section 2.1) [Elle 02].

Les systèmes de positionnements disponibles sur cette ligne permettent aujourd'hui d'irradier des modèles *in vitro*, petit animal mais aussi humain, avec la construction d'un système de contention adapté à un traitement de radiothérapie stéréotaxique.

1.2.2 Agents de contraste iodés

Cette approche poursuit les études préalablement réalisées par l'équipe de Norman dans une optique d'optimisation vers une utilisation clinique. Il est important de noter qu'un produit de contraste est composé de molécules iodées qui restent dans le milieu extra-cellulaire de la tumeur, à distance du noyau de la cellule qui est supposé être la principale cible cellulaire.

1.2.2.1 Études de survies cellulaires

Des études de radiosensibilité sur cellules (lignée SQ20B : cellules de carcinome humain) ont été réalisées par Stéphanie Corde dans le cadre de sa thèse [Cord 04], visant à évaluer l'énergie optimale d'irradiation pour déposer un maximum d'énergie dans un milieu chargé en iode. Dans cette étude, les cellules étaient irradiées en suspension dans un milieu iodé à une concentration de 10 mg/ml (produit de contraste iodé (PCI) utilisé : Ioméron) avec quatre faisceaux monoénergétiques : 32,8 keV et 33,5 keV (énergies de part et d'autre du seuil K de l'iode), 50 keV et 70 keV.

Des courbes de survie cellulaire ont été réalisées dans chaque cas avec et sans iode (cf. Figure 1.7). Le paramètre choisi comme étant représentatif de l'augmentation d'effet biologique en présence d'iode est le SER_{10} % (Sensitizer Enhancement Ratio). Ce type de paramètre est utilisé classiquement dans les tests de clonogénicité. Il est défini comme le rapport entre la dose de rayonnement nécessaire (prescrite dans l'eau) pour obtenir 10 % de survie cellulaire en absence et en présence d'éléments lourds (cf. 2.2.3.1).

La Figure 1.8 représente le SER_{10} % pour chaque énergie en comparaison du DER (Dose Enhancement Ratio), facteur d'augmentation de dose théorique, défini ici comme le rapport simple des coefficients massiques d'absorption en énergie (cf. section 2.1.5.3) dans des milieux homogènes en présence d'iode et dans l'eau.

Les résultats de survie cellulaire et la comparaison des facteurs d'augmentation mesuré et théorique montrent un maximum de la radiosensibilité pour le faisceau de 50 keV, avec un SER_{10} % de 1,95. La dépendance en énergie mesurée est globalement en accord avec la dépendance attendue à partir des coefficients d'absorption en énergie. Néanmoins les valeurs de DER sont systématiquement surestimées par rapport aux mesures de survies cellulaires (SER_{10} %), allant de 23 % (50 keV) à 40 % (33,5 keV) de surestimation.

Corde *et al.* ont fait plusieurs hypothèses pour expliquer cet écart :

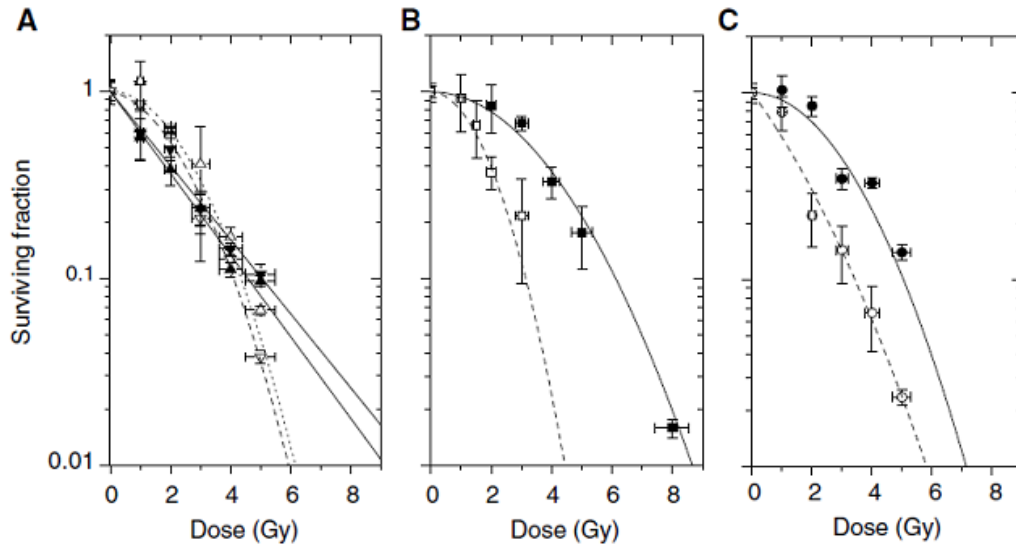


Figure 1.7: Courbes de survie pour des cellules SQ20B irradiées avec (symboles vides) ou sans (symboles pleins) 10 mg/ml de PCI dans le milieu, aux énergies de (A) 32,8 keV (triangles) et 33,5 keV (triangles inversés), (B) 50 keV (carrés) et (C) 70 keV (ronds) [Cord 04]

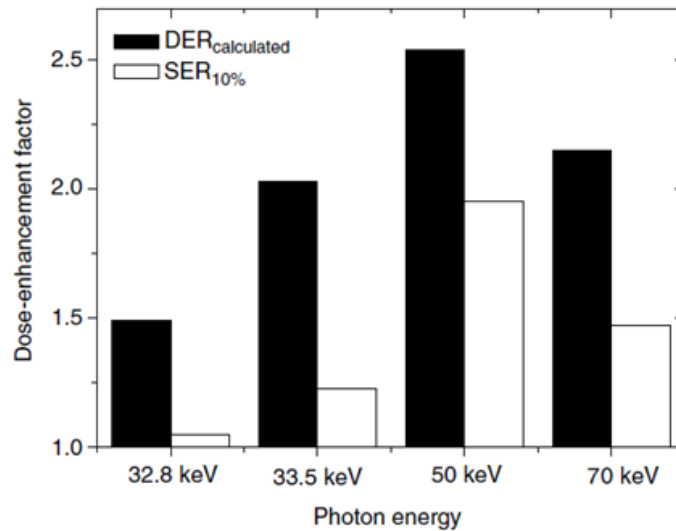


Figure 1.8: Comparaison de la dépendance en énergie du facteur d'augmentation calculé (DER) et du facteur mesuré $SER_{10\%}$, pour 10 mg/ml de PCI [Cord 04]

- La non prise en compte du fait que toute l'énergie déposée dans le milieu ne conduit pas nécessairement à une mort cellulaire.
- La non prise en compte de l'auto-absorption des photoélectrons par le milieu iodé lui-même.
- Le choix arbitraire des conditions expérimentales qui peuvent influencer les résultats (lignée cellulaire, densité de cellules pendant l'irradiation...).
- Les valeurs du facteur d'augmentation biologique qui sont dépendantes de la

définition de celui-ci (ici défini pour 10 % de survie).

Il existe aussi un effet de réduction du facteur d'augmentation dû au fait qu'en radiobiologie cellulaire, si un seul événement suffit à obtenir l'effet cellulaire voulu, comme par exemple la mort cellulaire, l'occurrence de plusieurs événements va produire une saturation de l'effet tendant à diminuer le facteur de sensibilité.

Aurélié Joubert a réalisé dans le cadre de sa thèse une étude de radiosensibilité sur une autre lignée cellulaire (BAEC : cellules endothéliales d'aorte bovine) en présence de PCI (Ioméron). Les résultats obtenus montrent une forte dépendance en fonction de la concentration en PCI dans le milieu en solution et une augmentation de l'effet biologique (avec 10 mg/ml de Ioméron) bien plus important à 50 keV ($SE R_{10}$ % mesuré de 2,7) qu'avec un faisceau de radiothérapie de 6 MV ($SE R_{10}$ % de 1,06). Ce résultat est en accord avec les études précédentes concernant les tendances en énergie [Joub 05].

1.2.2.2 Études *in vivo* sur petit animal

Pour une application *in vivo* de la technique plusieurs problèmes se posent, notamment l'obtention d'une concentration en iode dans la tumeur suffisamment élevée et stable pendant toute l'irradiation pour obtenir l'effet différentiel souhaité (cf. l'étude de Mello *et al.* [Mell 83]). Ce point est essentiel pour diminuer les doses aux tissus sains et particulièrement à l'os ([Rose 99]).

1.2.2.2.1 La question des modes d'injection :

Différentes études ont été publiées entre 1978 et 2007 [Norm 78b, Mesa 99, Adam 05, Rous 07] traitant de l'optimisation de la méthode d'injection du produit de contraste pour obtenir la plus forte concentration en iode dans la tumeur. Les méthodes qui ressortent sont :

- l'injection de PCI par voie intraveineuse (IV). C'est la méthode classique déjà utilisée pour l'imagerie et la plus maîtrisée.
- l'injection par voie artérielle en intracarotidien (IC) (proposée par Norman *et al.* [Norm 78b] et Mesa *et al.* [Mesa 99]). Cette solution permet d'augmenter la quantité de PCI dans la tumeur d'un facteur 4 environ par rapport à l'injection IV [Adam 05].
- l'ajout d'un produit permettant d'augmenter la perfusion de la tumeur en ouvrant de manière transitoire la barrière hémato-encéphalique. Un produit de ce type, appelé mannitol, a été testé et les résultats ont montré une augmentation de la concentration de PCI dans la tumeur d'un facteur 4 à 5 avec une injection IV et IC respectivement. Cependant, une augmentation significative de la concentration dans le cerveau sain environnant a aussi pu être mesurée [Adam 05].
- l'injection intra-tumorale par voie directe, dite « Convection-enhanced delivery » (CED). Cette méthode de diffusion lente et continue permet d'obtenir une

concentration en iode plus élevée dans la tumeur et une meilleure maîtrise de la distribution du produit par rapport à des injections en bolus (injection unique et rapide) [Rous 07].

Il existe donc plusieurs alternatives efficaces à l'IV pour obtenir une quantité importante d'iode dans la tumeur, améliorant les possibilités de la RSRS. Cependant ces méthodes sont plus invasives et moins bien maîtrisées et rendent délicate l'utilisation clinique sur patients.

1.2.2.2.2 Études de survie :

Une première étude menée en 2003 à l'ESRF sur des rats porteurs de gliomes (cellules F98) a permis de démontrer l'efficacité de cette modalité de radiothérapie par rayonnement synchrotron pour le traitement de gliomes sur un modèle vivant [Adam 03]. Les rats ayant reçu un agent de contraste (Ioméron, injecté en IV) puis irradiés à 50 keV jusqu'à 10 Gy, ont survécu en moyenne 18 jours après implantation de la tumeur et donc significativement plus longtemps (de 20 %) que ceux irradiés sans iode (survie moyenne de 15 jours) et de 44 % par rapport au groupe de contrôle non traité (survie moyenne de 12,5 jours).

Deux autres études sur le même modèle de gliome ont suivi dans le but d'étudier la réponse thérapeutique en fonction de la dose administrée à la tumeur [Adam 06] et en fonction de la méthode d'injection [Adam 05]. Ainsi différents groupes de rats ont reçu 5, 10, 15 ou 25 Gy avec un faisceau monochromatique de 50 keV. Un produit de contraste combiné avec du mannitol leur a été injecté par voie IV ou IC. Les résultats obtenus en termes de survie sont présentés Figure 1.9.

Ces études ont montré que l'efficacité de la RSRS pouvait être considérablement augmentée en injectant en IC de l'iode et du mannitol pour des doses inférieures à 15 Gy, avec un facteur d'augmentation de l'efficacité maximal par rapport à l'irradiation sans iode pour le groupe irradié à 5 Gy (1,85). À 25 Gy, une inversion de la situation a cependant pu être constatée, pour laquelle les rats irradiés sans iode obtiennent la meilleure augmentation de survie (607 %) tandis qu'avec le mannitol et l'iode, la moyenne de survie est plus faible que pour une fraction de 15 Gy. Les raisons de cette inversion n'ont pas été clairement déterminées mais Adam *et al.* émettent l'hypothèse que les vaisseaux sanguins aient pu subir des dommages trop importants à cause de la concentration élevée de produit de contraste dans ces derniers. La solution d'injection directe dans la tumeur en CED semble ici adaptée pour éviter ce genre de dégâts.

Norman *et al.* avaient montré en 1997 [Norm 97] que sur les tumeurs spontanées du chien, la survie augmentait avec le nombre de fractions pour une même dose délivrée. Suite aux résultats de Adam *et al.*, l'effet du fractionnement de la dose sur la réponse thérapeutique pourrait être un protocole intéressant à étudier sur synchrotron afin

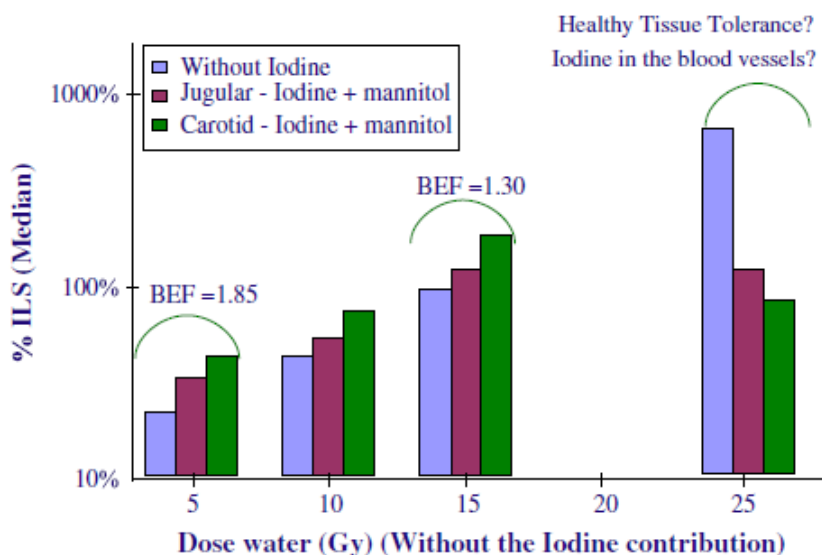


Figure 1.9: Taux d’augmentation de la survie moyenne des groupes par rapport au groupe contrôle (non traité) en fonction de la dose administrée et du traitement : sans iode, avec iode en IV combiné avec du mannitol et avec iode en IC combiné avec du mannitol [Adam 08]

d’augmenter l’effet différentiel en présence d’iode, mais il est néanmoins difficile à réaliser à cause de l’accès restreint au faisceau.

1.2.2.3 Préparation aux essais cliniques

De nombreuses expériences *in vivo* et *in vitro* ont été réalisées à l’ESRF et ont montré la faisabilité et l’efficacité de la technique de RSRS avec injection de produit de contraste iodé. Ces avancées ont permis de prétendre à l’utilisation de la technique pour le traitement de métastases cérébrales (dans un premier temps) chez l’humain dans le cadre d’un essai thérapeutique de phase I actuellement démarré. Deux thèses ont principalement contribué à l’optimisation du traitement et de la dosimétrie.

Caroline Boudou a montré d’abord la faisabilité, d’un point de vue dosimétrique, de l’utilisation du faisceau synchrotron pour le traitement des tumeurs cérébrales chez l’homme. Des simulations Monte Carlo (code MCNPX) ont été réalisées à partir d’images scanner d’un patient porteur d’une tumeur fictive chargée en iode [Boud 05]. Elle a notamment étudié l’influence de l’utilisation d’un faisceau monochromatique quant à la dose dans l’os (Figure 1.10-A), qui permet selon ses résultats de diminuer de 9 à 32 % cette dose par rapport à un faisceau polychromatique, tel que celui du CTRx utilisé par Norman *et al.*

Une autre étude en fonction de l’énergie d’irradiation a permis de choisir un faisceau adapté pour le cas d’un patient. La Figure 1.10-B montre que toutes les énergies supérieures à 50 keV sont adaptées pour augmenter la dose à la tumeur et

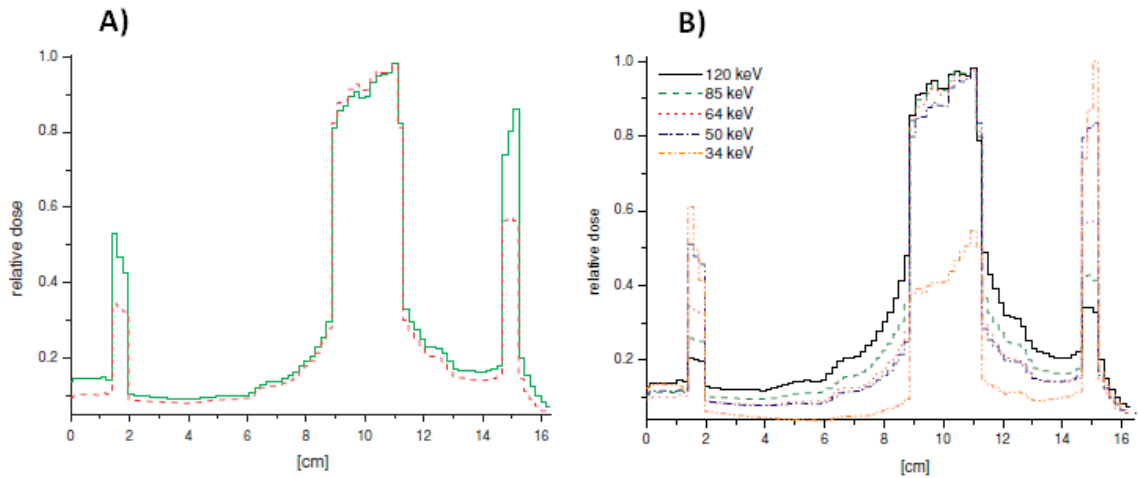


Figure 1.10: A : Profils de dose obtenus dans un crâne humain lors d’une irradiation polychromatique (spectre du CTRx) en vert et monochromatique (énergie effective du spectre, soit 64 keV) en rouge avec 10 mg/ml d’iode dans la tumeur. B : Profils de dose normalisés avec des faisceaux d’énergie différentes pour 10 mg/ml d’iode dans la tumeur [Boud 05]

réduire celle aux tissus cérébraux sains. Pour une même dose à la tumeur, le faisceau de 50 keV protège mieux le cerveau sain environnant la tumeur (Dose tumeur / dose tissu = 9,17) et le faisceau de 120 keV protège mieux les os (Dose tumeur / dose os = 5,14). Le choix d’un faisceau aux alentours de 80 keV semble être un bon compromis entre le contrôle tumoral et la dose à l’os.

Les travaux de Magalie Edouard durant sa thèse (soutenue en 2010) ont contribué à l’optimisation de la dosimétrie pour la RSRS quant aux paramètres d’irradiation et à l’homogénéisation de la dose dans la tumeur [Edou 10a]. Une deuxième partie de sa thèse a porté sur une approche microdosimétrique du calcul de dose visant à prendre en compte l’hétérogénéité de distribution de l’agent de contraste dans la tumeur à l’échelle de la dizaine de micromètres du fait qu’il reste dans le milieu interstitiel et ne rentre pas dans les cellules. Cette étude a permis de quantifier l’erreur commise dans le calcul de dose si cette hétérogénéité n’est pas prise en compte. Une surestimation de la dose de 3 à 5 % a été trouvée pour un faisceau de 80 keV lorsque l’inhomogénéité de la distribution de d’iode n’était pas prise en compte. Pour des faisceaux de plus faible énergie, 34 et 50 keV, des surestimations de 10 à 20 % ont été obtenues, démontrant l’importance de la prise en compte des hétérogénéités déjà à l’échelle microscopique pour le calcul de dose [Edou 10b].

Ces différentes études ont permis d’optimiser la préparation de la RSRS pour un essai clinique. Le choix d’un faisceau de 80 keV semble offrir un bon compromis pour le traitement d’une tumeur chargée en iode avec une augmentation de dose qui reste élevée dans la tumeur (environ un facteur 2 pour 10 mg/ml) tout en protégeant au mieux les

os du crâne par rapport aux énergies plus faibles ou des faisceaux polychromatiques. Il a aussi été montré que le traitement par photoactivation de PCI à basse énergie permet de mieux épargner les tissus cérébraux sains autour de la tumeur par rapport à un traitement conventionnel haute énergie [Boud 05, Edou 10a].

1.2.3 Agents pharmacologiques

Les agents de contraste mentionnés jusqu'à présent n'entrent pas à l'intérieur des cellules. Afin d'augmenter l'effet biologique des éléments lourds, des études se sont alors tournées vers les agents pharmacologiques pour s'approcher au plus près de la cible cellulaire principale, l'ADN. Ces agents ont la particularité de se fixer directement sur l'ADN cellulaire, ce qui en fait un vecteur de choix pour étudier les effets liés aux très basses énergies produits par les éléments lourds (électrons Auger, Coster-Kronig, cf. section 2.1.4). L'objectif est ici de relier la présence d'éléments lourds au sein de la molécule à une éventuelle augmentation de dommages graves à l'ADN, tels que les cassures double-brin (CDB).

La principale difficulté est d'obtenir un compromis entre une concentration suffisante pour avoir un effet physique d'augmentation de l'absorption par les éléments lourds, mais pas trop élevée pour limiter la toxicité intrinsèque de la molécule. Les agents pharmacologiques étudiés sont :

- l'IUdR (5-iodo-2-désoxyuridine) : il s'agit d'un analogue iodé de la base thymine de l'ADN pouvant prendre sa place lors de la division cellulaire.
- des agents de chimiothérapie à base de platine : le carboplatine et le cisplatine (ou CDDP). Ces agents agissent sur l'ADN en s'intercalant entre deux bases par des liaisons covalentes capables de déformer la molécule d'ADN.

1.2.3.1 Résultats obtenus avec l'IUdR

Trois études *in vitro* ont été réalisées, dans les années 90, pour comparer la radiosensibilité obtenue en présence d'IUdR avec différents types d'irradiations externes : sources radioactives utilisées en curiethérapie [Nath 90], rayonnement quasi-monochromatique synchrotron visant la compréhension d'un effet autour du seuil K de l'iode [Last 93] et tubes RX de différentes énergies [Karn 99].

Les travaux de Nath *et al.* [Nath 90] ont permis de montrer pour la première fois qu'une intégration d'IUdR à l'ADN relativement importante (10^{-4} M) dans un modèle cellulaire entraînait une augmentation de cassures d'ADN sous irradiation par rapport à des cellules irradiées sans IUdR. Le facteur d'augmentation s'élevait jusqu'à un facteur 3 dans le cas d'une irradiation par une source d' ^{241}Am (émission principale à 60 keV).

L'étude suivante [Last 93] a permis de se focaliser plus précisément sur les énergies de part et d'autre du seuil K de l'iode (à 32,9 et 33,4 keV). Les auteurs ont ainsi mis en évidence une augmentation de l'effet biologique ($\text{SER}_{10} \%$) de 3,1 pour 33,4 keV et de 1,6 pour 32,9 keV. Ils ont alors émis l'hypothèse que l'effet biologique observé pouvait être dû aux cascades Auger des atomes d'iode ionisés en couche K.

Quelques années plus tard, Karnas *et al.* [Karn 99] ont réalisé une étude cellulaire, avec une irradiation provenant d'un tube RX de 30 et 100 kV de différentes filtrations, et l'ont comparé aux rapports théoriques des coefficients d'absorptions (DER) pour une concentration en iode correspondant au taux d'intégration de 18 % de l'IuDR à l'ADN cellulaire. Ils ont obtenu une bonne corrélation entre les SER_{10} % mesurés et les DER calculés en tenant compte de l'énergie équivalente des faisceaux polychromatiques. En calculant ensuite les DER pour des énergies allant de 1 à 100 keV, les auteurs ont proposé une énergie optimale entre 50 et 60 keV, correspondant au DER maximum, et non au-dessus du seuil K comme pouvait le suggérer l'étude de Laster *et al.* [Last 93] (qui n'avaient étudié que les énergies de part et d'autre du seuil K). Cependant, il faut noter que les calculs de DER ne tiennent pas compte de la proximité des atomes d'iode à l'ADN dans le sens où le taux d'intégration est ici assimilé à une concentration en iode équivalente, ne faisant donc pas de différence avec les résultats considérant l'iode sous forme de PCI.

L'étude de Corde *et al.* [Cord 04] réalisée par la suite semble avoir tranché sur la question de l'optimisation du choix de l'énergie d'irradiation en comparant les SER_{10} % obtenus avec un PCI (cf. section 1.2.2.1) à ceux obtenus avec de l'IuDR (48 h d'incorporation à 10 μ M). Les résultats confirment un maximum pour une énergie de 50 keV pour laquelle un SER_{10} % de 2,6 a été obtenu avec l'IuDR comparé à 1,64 à 33,5 keV (cf. Figure 1.11).

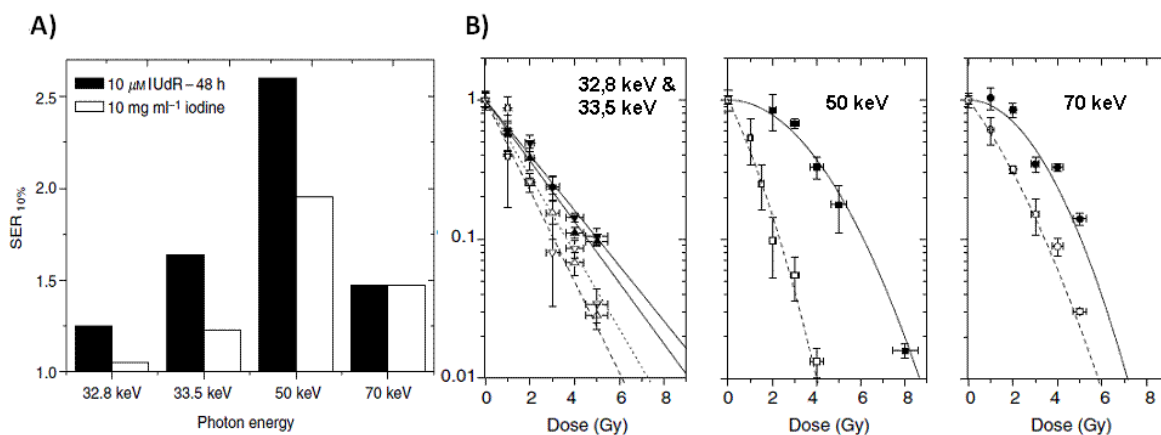


Figure 1.11: A : Comparaison en fonction de l'énergie du facteur d'augmentation de sensibilité (SER_{10} %) entre des cellules contenant de l'IuDR et celles mélangées avec un agent de contraste iodé. B : Courbes de survie des cellules SQ20B contenant de l'IuDR (symboles vides) ou non (symboles pleins), pour différentes énergies d'irradiation [Cord 04]

La Figure 1.11-A montre une tendance similaire pour les deux conditions (iode extra ou intra cellulaire) mais un effet radiosensibilisant plus important lorsque l'iode est intra-cellulaire. Il est intéressant de remarquer que les courbes de survie montrent une forte diminution de l'épaule lors de l'ajout d'IuDR. Cette forme est caractéristique des rayonnements de haut transfert d'énergie linéique (cf. section 2.1.5.5),

suggérant des dommages létaux complexes potentiellement dus aux électrons Auger.

Plus récemment, une étude a été faite *in vivo*, sur des rats porteurs de gliomes F98, afin de tester le potentiel thérapeutique de l'incorporation d'IUdR en intracérébral, combiné à une irradiation synchrotron de 50 keV (15 Gy) [Rous 09a]. Les auteurs ont obtenu des survies médianes de 24, 44, 32 et 46 jours respectivement pour les groupes témoins, l'irradiation seule, la chimiothérapie seule et la combinaison chimio-irradiation. Contrairement à ce qui était attendu, la combinaison de l'IUdR et de l'irradiation n'a pas montré d'effet thérapeutique significativement meilleur.

Les causes de cette absence de réponse ne sont pas connues et méritent une étude plus approfondie. Puisque la quantité d'IUdR incorporé dans l'ADN n'a pas pu être déterminée, il se peut que celle-ci ait été insuffisante pour observer un effet physique Auger, probablement masqué ici sous l'effet chimio-thérapeutique apporté par l'agent pharmacologique lui-même.

1.2.3.2 Résultats obtenus avec le cisplatine et le carboplatine

Des études ont aussi été réalisées à l'ESRF pour tester le gain thérapeutique que peut apporter ce type d'agents couplé à la RSRS.

Des approches cellulaire [Cord 02] et moléculaire [Cord 03] ont d'abord été proposées avec du cisplatine. La première étude a montré que les courbes de survie cellulaire avec irradiation en-dessous et au-dessus du seuil K du Platine (78,39 keV) étaient identiques. Ceci peut potentiellement être expliqué par le fait que les cellules peuvent mourir à cause de l'agent pharmacologique rendant invisible l'effet Auger dû à l'irradiation. L'approche moléculaire, ayant conduit à une nette augmentation du nombre de cassures de l'ADN en présence de cisplatine, confirme cette hypothèse.

Ces résultats mettent en évidence un problème de toxicité de la drogue, pour la mise en place d'expériences *in vitro* sur cellules mais aussi *in vivo* chez l'animal.

Le cisplatine a tout de même été expérimenté *in vivo* par Biston *et al.* [Bist 04] sur des rats porteurs de gliomes F98. L'étude portait sur l'action radio-chimiothérapeutique de la drogue combinée à une irradiation en RSRS aux alentours de l'énergie d'absorption K du platine. De nombreuses combinaisons de traitement en fonction de la dose, de l'énergie du faisceau et de la quantité de cisplatine injectée, ont été testées afin de trouver la meilleure option thérapeutique. Celle-ci a été obtenue pour la dose la plus élevée (15 Gy) et pour 3 μg de cisplatine injecté en intracérébral, l'énergie utilisée n'ayant pas d'influence significative.

La survie médiane avec cette combinaison était de 206 jours, ce qui constitue la meilleure survie obtenue à ce jour pour ce modèle de gliome radiorésistant F98.

Julia Rousseau a ensuite réalisé durant sa thèse plusieurs études précliniques sur la combinaison carboplatine ou cisplatine avec une irradiation, en faisant varier les paramètres de fractionnement de dose et le faisceau utilisé en haute ou basse énergie [Rous 07, Rous 09b, Rous 10]. L'un des résultats de survie obtenu avec du

carboplatine injecté en CED est présenté sur la Figure 1.12.

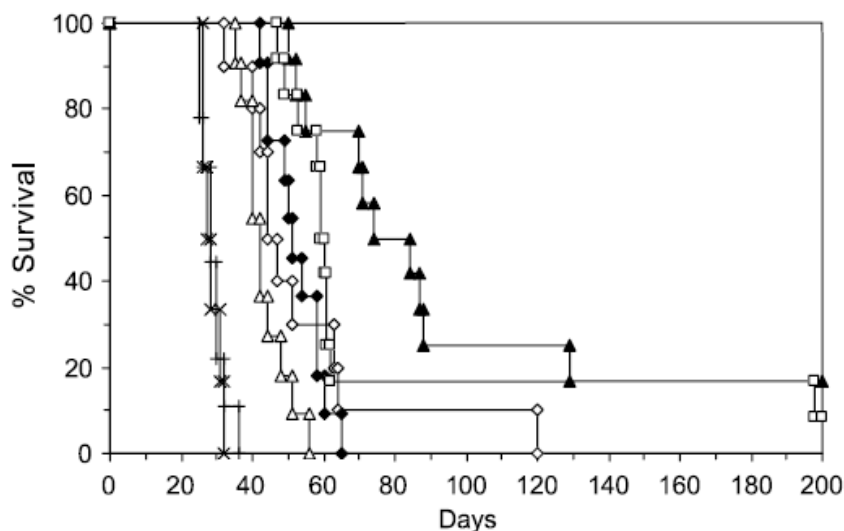


Figure 1.12: Courbes de survie pour un traitement réalisé 13 jours après implantation de la tumeur : contrôle (+ et ×), irradiation seule en 3×8 Gy à 6 MV (Δ) et combiné avec du carboplatine (\blacktriangle), irradiation seule à 78,8 keV (\blacklozenge) et combiné avec du carboplatine (\square) [Rous 07]

Une conclusion importante concernant ces résultats est la similitude des courbes de survie obtenues avec le faisceau de radiothérapie conventionnelle à 6 MV et celui provenant du synchrotron à 80 keV [Rous 07]. Cet effet est confirmé en 2010 sur des études avec du cisplatine [Rous 10] mettant en évidence le fait que la combinaison de l'un de ces agents chimiothérapeutiques à base de platine avec une irradiation permet, indépendamment de l'énergie utilisée, d'augmenter significativement la survie de rats porteurs de gliomes F98 allant de 13 % à 55 % de survie à long terme selon le protocole utilisé (soit 713 % d'augmentation de l'espérance de vie [Rous 09b]).

Ces résultats ont donc montré une efficacité très importante de l'approche pour le traitement de gliomes de haut grade. Cependant cette efficacité ne peut pas être attribuée à un effet Auger dû à la photoactivation du platine à basse énergie, comme il pouvait être attendu, mais plutôt à un effet radio-chimiothérapeutique. L'intérêt d'utiliser un rayonnement synchrotron pour une telle combinaison de traitement est donc très limité.

La technique a été transférée aux États-Unis par le professeur Rolf Barth pour être appliquée lors d'essais cliniques [Huo 12, Bart 11].

1.3 Photoactivation de nanoparticules d'or pour la thérapie

Ces dernières années ont vu apparaître dans la communauté scientifique un engouement important pour les nanosciences et les nanotechnologies. Parmi celles-ci, l'une des branches privilégiées de recherche est l'utilisation des nanosciences pour la santé et plus particulièrement pour le traitement des cancers. C'est dans cette optique que les nanoparticules d'or (AuNP) sont étudiées au titre d'éléments « radiosensibilisateurs », car de numéro atomique élevé ($Z_{Au} = 79$), pour les traitements par radiothérapie. L'utilisation des nanoparticules est proche de celle des agents de contraste, décrite dans les parties précédentes de ce chapitre, mais les mécanismes qu'elles induisent semblent différents.

Aujourd'hui encore, la radiosensibilisation causée par ces objets complexes sur le vivant sont mal compris. L'un des objectifs de cette thèse est d'aider à comprendre ces effets par la corrélation de simulations Monte Carlo et de données expérimentales. Nous nous sommes principalement référés aux expériences réalisées par l'équipe de l'INSERM, sur la ligne médicale de l'ESRF, qui s'intéresse depuis quelques années aux nanoparticules d'or et de gadolinium pour le traitement des gliomes de haut grade.

1.3.1 Études expérimentales portées sur la radiosensibilisation due aux AuNP

1.3.1.1 Expériences pionnières

Deux expériences pionnières quant à l'effet radiosensibilisateur de l'or ont été réalisées par Regulla *et al.* en 1998 [Regu 98] et Herold *et al.* en 2000 [Hero 00].

Regulla *et al.* [Regu 98] ont mis en évidence une augmentation de la dose physique à l'interface d'une feuille d'or. La mesure a été faite avec un détecteur (film) collé à un bloc de PMMA seul puis avec une feuille d'or intercalée, l'ensemble étant irradié à différentes énergies avec un tube RX (énergie équivalente : 33 à 100 keV). Ils ont obtenu jusqu'à un facteur 100 d'augmentation de dose physique par rapport à l'irradiation sans feuille d'or. En remplaçant ensuite le détecteur par une couche de cellules (fibroblastes) ils ont obtenu une augmentation de la dose biologique (rapport des survies cellulaires pour une même dose) allant jusqu'à un facteur 50 en présence de la feuille d'or.

Les travaux de Herold *et al.* [Hero 00] font suite à ces résultats marquants en proposant d'utiliser l'or comme radiosensibilisateur, non plus seulement au contact d'un objet massif, mais sous forme de microparticules de 1,5 à 3 μm de diamètre permettant de les mélanger dans une solution. Une première partie de l'étude a porté sur l'effet des microsphères d'or en concentration de 1 % dans un milieu cellulaire pour trois lignées cellulaires et pour différentes énergies d'irradiation (tube RX de 100 à 240 kVp et rayons gamma du ^{137}Cs d'énergie 662 keV). Indépendamment de la lignée

cellulaire, une radiosensibilisation a été observée pour le tube RX ($\text{SER}_{50} \%$), de 1,64 pour 200 kVp et les cellules EMT-6, mais pas pour les rayons gamma du ^{137}Cs .

Une deuxième partie de l'étude a été réalisée *in vivo* sur des souris porteuses de tumeurs dans lesquelles ont été injectées les microsphères. Les souris ont reçu une irradiation de 8 Gy à 200 kVp puis une analyse en culture des cellules tumorales a été faite. L'étude a montré qu'il y avait 1,6 fois moins de colonies pour l'irradiation en présence d'or que pour l'irradiation seule. Les auteurs ont toutefois remarqué, lors d'analyses de coupes par microscopie, que les microsphères étaient réparties de façon très hétérogène dans la tumeur et n'atteignaient pas les régions très peuplées en cellules à cause de leur taille. Ils ont donc suggéré l'utilisation de particules de tailles plus petites pour une meilleure pénétration de l'or grâce à la vascularisation de la tumeur.

Cette idée a été reprise quelques années plus tard par Hainfeld *et al.* [Hain 04] pour des expériences *in vivo* (cf. partie 1.3.1.3) puis par de nombreuses autres équipes.

1.3.1.2 Expériences *in vitro* récentes

Les phénomènes physiques, chimiques et biologiques à l'origine de l'effet d'augmentation de dose dû aux AuNP étant mal compris, de nombreuses études *in vitro* sur ADN ou sur cellules ont été réalisées ces dernières années pour optimiser d'une part la radiosensibilisation de cellules (ex : [Butt 10, Simo 08]) et d'autre part les caractéristiques des nanoparticules pour une plus grande efficacité (ex : [Chit 06, Chit 10, Kong 08]) tout en essayant de comprendre de manière plus fondamentale les phénomènes mis en jeu ([Porc 10, Brun 09b, McMa 11b]).

L'une des problématiques quant aux caractéristiques des nanoparticules, est la maîtrise de la position de l'or dans la tumeur de manière à se rapprocher des cibles cellulaires, telles que le noyau.

Chithrani *et al.* [Chit 06, Chit 10] ont réalisé une étude sur l'intégration des AuNP dans des cellules (HeLa) en fonction de différents paramètres tels que la taille, la concentration, le temps d'incubation et la forme des AuNP (bâtonnets ou sphériques) [Chit 06], puis une étude de radiosensibilité associée [Chit 10]. Ils ont montré dans la première étude que les AuNP entraient dans les cellules par voie d'endocytose et restaient dans les vésicules. La taille optimale des AuNP sphériques, celle pour laquelle la cellule en intégrait la plus grande quantité, est de 50 nm. Le temps d'incubation semble suffisant à partir de 5 h (saturation ensuite) et l'intégration augmente légèrement en fonction de la concentration mais atteint un plateau entre 0,8 et 16 μM selon le diamètre (cf. résultats Figure 1.13).

La forme de bâtonnets a été étudiée pour différents rapports de largeur et hauteur mais semble moins efficace que la forme sphérique pour pénétrer dans les cellules. Cependant, la chimie de surface étant légèrement différente de celle des nanoparticules sphériques, il est difficile de conclure sur l'efficacité de chacune d'elles.

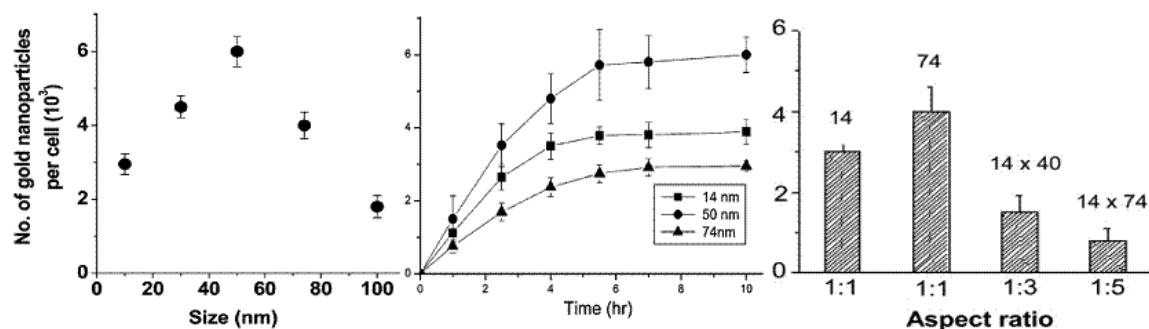


Figure 1.13: Étude de l'efficacité d'intégration des nanoparticules d'or dans des cellules en fonction du diamètre des AuNP sphériques, du temps d'incubation avec les cellules et de la forme [Chit 06]

Les études de radiosensibilité montrent les mêmes tendances avec un facteur d'efficacité maximum obtenu pour des AuNP sphériques de 50 nm [Chit 10]. Une optimisation en fonction de l'énergie d'irradiation montre aussi un effet bien plus élevé lors de l'utilisation d'un faisceau 105 kVp comparé à un faisceau de 6 MV (respectivement 1,66 et 1,17), en accord avec les résultats de nombreuses autres études ayant déjà démontré l'apport de l'utilisation des basses énergies pour la photoactivation d'éléments lourds.

D'autres équipes ont testé différentes chimies de surface de manière à fonctionnaliser les AuNP.

Kong *et al.* [Kong 08] ont ainsi étudié la radiosensibilité de cellules de cancer du sein (MCF-7 et MCF-10A) avec deux types de nanoparticules fonctionnalisées : l'une recouverte de cystéamine (EAT-AuNP) permettant aux AuNP de rester collées à la membrane et l'autre recouverte de thioglucose (Glu-AuNP) permettant l'internalisation des AuNP dans le cytoplasme. L'expérience a permis d'observer une augmentation de la toxicité des rayonnements (200 kVp) de 63,5 % en présence de Glu-AuNP et de 31,7 % en présence de AET-AuNP pour des cellules tumorales malignes (MCF-7), non observée pour les cellules bénignes (MCF-10A).

Ces résultats semblent montrer que ces particules fonctionnalisées peuvent cibler des cellules cancéreuses en prolifération et épargner les saines, atout attrayant pour une utilisation clinique.

Deux équipes de l'Université Paris Sud étudient l'effet de radiosensibilisation dû à la présence de nanoparticules. La première à l'Institut des Sciences Moléculaires d'Orsay (ISMO) travaille plutôt sur du platine sous forme d'atomes ou de nanoparticules liés à l'ADN, visant une augmentation de l'effet de dose en hadronthérapie (faisceau d'ions carbone), tandis que la seconde au Laboratoire Chimie Physique (LCP) s'intéresse à l'effet des nanoparticules d'or sous rayonnement X de basse énergie.

Différentes études de radiosensibilisation de plasmides en présence de platine ont été réalisées dans la première équipe [Laco 09, Porc 10, Koba 10]. Parmi ces résultats, une forte augmentation de la radiotoxicité a été observée en présence de nanoparticules de platine (jusqu'à un facteur 2,2 pour le nombre de CDB). Les auteurs attribuent cette augmentation à une forte production d'électrons Auger produits lors des ionisations des atomes de platine en couche interne. Ces électrons de basse énergie (inférieur à 1 keV pour la plupart) produits à proximité de l'ADN peuvent ainsi être responsables de nombreux dommages létaux par ionisation directe de celui-ci ou par production de radicaux libres très réactifs (effet indirect).

Ces résultats sont très intéressants quant à la compréhension des phénomènes mis en jeu. Cependant les électrons Auger et Coster-Krönig de basse énergie ont un parcours dans l'eau très faible (< 100 nm) et ne peuvent donc avoir un effet sur l'ADN que s'ils sont produits à proximité de celui-ci. L'expérience décrite précédemment avec les nanoparticules [Porc 10] ayant été réalisée avec de l'ADN plasmide, la transposition de la fixation à l'ADN et l'effet d'augmentation de dose est moins évident sur des modèles cellule ou animal et nécessitent des études complémentaires.

L'équipe du LCP d'Orsay a travaillé sur la radiosensibilisation des bactéries [Simo 08], des molécules d'ADN [Brun 09b] et des protéines [Brun 09a] dans le but de mieux comprendre la variation de cette augmentation de radiosensibilité en fonction de différents paramètres d'irradiation et de NP.

Les nanoparticules n'étant pas fonctionnalisées, la première étude a montré que les AuNP n'entraient pas dans les bactéries mais restaient au contraire dans la solution agglomérées quelquefois en amas. Malgré la distance des AuNP aux cibles ADN, un effet d'augmentation de la toxicité cellulaire a été observé en présence d'AuNP, d'autant plus fort que la dose est importante (irradiation avec un faisceau de 40 kVp), alors qu'aucun effet n'a été observé sans AuNP, celles-ci s'étant révélées non toxiques sans irradiation.

Le fait que les AuNP se trouvaient éloignées des cibles cellulaires laisse supposer qu'un effet, autre que la grande production d'électrons de très basse énergie (< 1 keV), a produit cette radiosensibilité.

Les études sur de l'ADN plasmide ont montré une dépendance linéaire en fonction du diamètre des NP et en fonction de leur concentration dans le milieu (Figure 1.14-A et B). Les efficacités les plus importantes (allant jusqu'à un facteur 3,5) sont obtenues pour la plus haute concentration, le plus gros diamètre de NP (92 nm) et pour une énergie d'irradiation d'environ 50 keV (énergie moyenne du faisceau polychromatique) (Figure 1.14-C).

EF (pour Enhancement factor) est un facteur permettant de quantifier l'effet de radiosensibilisation. Il est défini ici comme le rapport du nombre de cassures d'ADN avec et sans AuNP. La forme globale de la courbe 1.14-C est relativement semblable à celle que l'on peut obtenir par comparaison avec les rapports de coefficients d'absorption massique des RX dans l'or et l'eau, avec toutefois un questionnement sur le

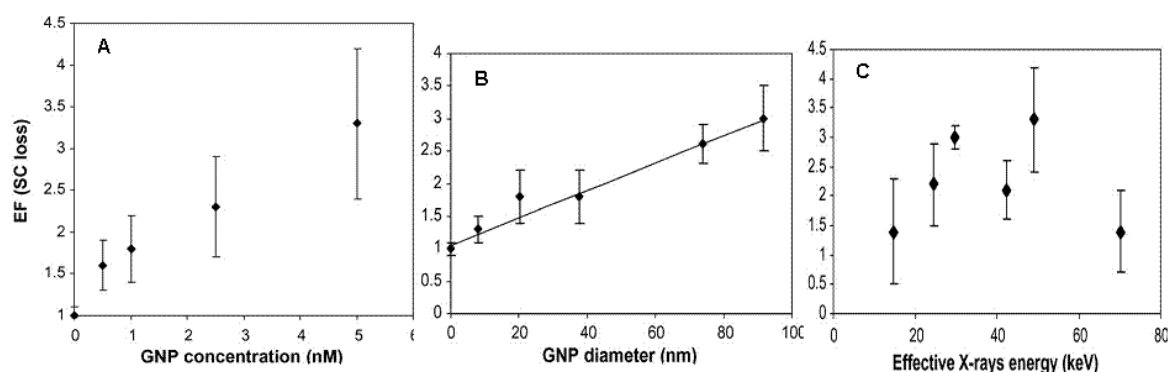


Figure 1.14: Étude de radiosensibilité (EF : Enhancement Factor) sur de l'ADN plasmide en fonction de la concentration en AuNP (A), du diamètre des AuNP (B) et de l'énergie utilisée pour l'irradiation (C) [Brun 09b]

creux observé vers 40 keV. Cependant, sur cette figure, les barres d'erreurs sont très importantes et il est difficile d'en tirer une conclusion.

Une publication très récente a permis de confirmer expérimentalement cette dépendance de la radiosensibilité avec l'énergie de faisceau [McMa 11b]. Deux types de mesures ont été faites indépendamment et les barres d'erreurs sont plus réduites qu'en Figure 1.14-C, confirmant l'existence d'un minimum de radiosensibilité significatif observé à 40 keV. Les auteurs ont constaté de grandes différences qualitatives et quantitatives avec les prédictions théoriques, basées sur les coefficients d'absorption massique des RX. Les résultats montrant la comparaison entre l'expérience et la théorie peuvent être trouvés en Figure 1.15.

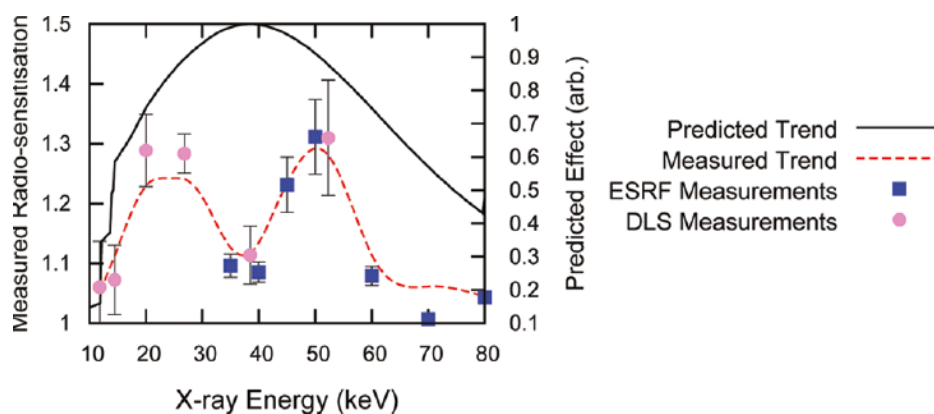


Figure 1.15: Étude de radiosensibilité sur de l'ADN plasmide en fonction de l'énergie du faisceau RX utilisé pour l'irradiation [McMa 11b]

Nous pouvons toutefois remarquer que ces études ont été faites sur de l'ADN plasmide, avec des AuNP potentiellement proches de la cible biologique. La question peut donc se poser sur l'origine d'une telle dépendance, qui semblerait être attribuable à une production massive d'électrons de très basse énergie et de radicaux à proximité

des AuNP, comme le suggèrent les auteurs. Mais cette dépendance, dont l'origine est encore floue, serait-elle reproductible dans un modèle cellulaire ? La réponse n'est pas aisée, aucune expérience n'a pu encore le mettre en évidence à notre connaissance.

Partant de ce type d'observations, un point intéressant de la thèse serait d'étudier par la simulation Monte Carlo, la dose déposée à l'échelle micrométrique et nanométrique. En particulier, la dépendance de cette grandeur à différents paramètres physiques, tels que le diamètre de nanoparticule et l'énergie du faisceau. La connaissance plus précise des dépendances à ces petites échelles peut permettre la mise en évidence d'une cause physique à l'origine des dépendances observées expérimentalement par Brun *et al.* [Brun 09b] et McMahon *et al.* [McMa 11b]. Ce point a été étudié plus en détail dans le chapitre 4 de cette thèse (cf. section 4.4).

Parmi toutes les études réalisées sur modèle cellulaire, aucune n'a pu montrer de localisation des nanoparticules dans les noyaux des cellules. Mais des phénomènes d'augmentation importante de la radiosensibilité ont néanmoins pu être observés sans que les causes d'une telle augmentation ne soient clairement déterminées.

Une publication récente semble ouvrir une voie prometteuse avec le développement de nanoparticules d'éléments lourds (or et platine) à base de lanthanides, qui auraient la capacité d'être intégrées dans le noyau des cellules [Lewi 10]. Ces nanoparticules ont pour l'instant été développées et testées pour l'imagerie mais s'annoncent très encourageantes pour l'augmentation de la radiosensibilité dans les applications thérapeutiques.

1.3.1.3 Études de survie sur petit animal

Hainfeld *et al.* [Hain 04] ont été les premiers à utiliser des particules d'or de tailles nanométriques pour réaliser des expériences *in vivo*, comme l'avaient suggéré Herold *et al.* [Hero 00]. Les résultats de ces études publiés en 2004 ont fait référence dans le domaine et inspiré de nombreuses équipes de recherche.

L'expérience a été réalisée avec des souris porteuses de carcinomes sous-cutanés (cellules EMT-6) injectés dans la cuisse. Des nanoparticules d'or de 1,9 nm de diamètre (de la société Nanoprobe, Inc.) ont été injectées aux souris dans une veine de la queue en quantité variable : 1,35 ou 2,7 g Au / kg selon le cas étudié (suivi de la concentration dans la tumeur par radiographie). Une partie des souris a ensuite reçu une irradiation de 26 ou 30 Gy avec un tube RX de 250 kVp (en une seule fraction). Les résultats obtenus sont présentés Figure 1.16.

L'analyse de la taille des tumeurs a révélé une progression très rapide pour une irradiation seule (cinq fois la taille initiale en un mois) contrairement au groupe ayant reçu 1,35 g Au / kg pour lesquelles la tumeur a complètement disparu ou régressé. Ces excellents résultats sont confirmés avec l'étude de survie des souris à long terme (survie supérieure à un an) pour laquelle un facteur d'augmentation de survie de 2,5 a été observé pour le groupe injecté avec 1,35 g Au / kg et irradié à 26 Gy par rapport à celui ayant seulement reçu une irradiation et un facteur 4,3 pour 2,7 g Au / kg avec

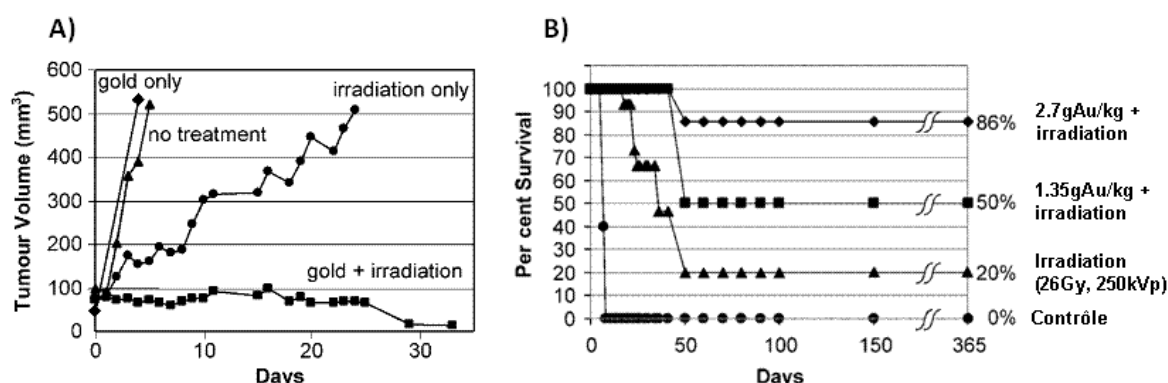


Figure 1.16: A : Volume moyen de la tumeur après traitement pour les différents groupes de souris (irradiation 30 Gy et injection de 1,35 g Au / kg). B : Courbe de survie des souris pour les différents traitements (irradiation de 26 Gy) [Hain 04]

86 % des rats qui survivent à long terme. Les groupes sans tumeur, injectés avec les mêmes concentrations en or, n'ont montré aucune toxicité aux nanoparticules jusqu'à un an de suivi et laissent supposer que, du fait de leur très petite taille, les AuNP sont bien évacuées par les reins.

Ces résultats ont montré l'exceptionnel potentiel bénéfique de la technique pour le traitement du cancer et ont inspiré de nombreuses équipes dans cette voie de recherche.

Néanmoins, il est à noter que ces mêmes nanoparticules se sont avérées extrêmement toxiques lors de l'injection de quantités similaires directement en intra-tumoral sur des rats porteurs de gliomes (cf. thèse de Laure Bobyk [Boby 10]). Cet exemple met en évidence l'un des points les plus problématique quant à l'utilisation de NP pour la clinique, c'est-à-dire leur toxicité. De nombreuses études montrent qu'elle est très dépendante des caractéristiques des NP, telles que leur chimie de surface par exemple, ainsi que du modèle animal ou cellule utilisé. Il est donc très important de vérifier pour chaque modèle étudié la quantité de NP tolérée. De plus, nous avons pu voir que la localisation de la tumeur influait beaucoup sur l'efficacité d'un traitement. Par exemple, nous avons vu au début de ce chapitre que l'expérience *in vivo* de Mello *et al.* [Mell 83] donnait des résultats similaires à celle de Hainfeld *et al.* [Hain 04]. L'expérience de Mello *et al.* avait aussi été réalisée sur des rats porteurs de tumeurs sous-cutanées et les résultats étaient surprenant : 80 % de régression totale de la tumeur pour le groupe de rats irradiés avec injection de produit de contraste iodé alors que le groupe seulement irradié ne présentait aucune régression totale. En revanche, en passant à un modèle tumoral cérébral, comme dans l'expérience de Iwamoto *et al.* [Iwam 87], l'augmentation de l'efficacité thérapeutique en présence de produit de contraste est bien présente mais très faible par rapport à celle observée dans le cas de tumeurs sous-cutanées. Il faut donc faire attention au modèle tumoral étudié lorsque l'on veut comparer l'efficacité de traitements obtenus sur différentes expériences.

Étrangement, peu d'autres études *in vivo* sur petit animal ont été publiées depuis celle de Hainfeld *et al.* [Hain 04] : une expérience a été réalisée en 2008 par Chang *et al.* [Chan 08] avec faisceau d'électrons, une autre publiée en 2010 par Hainfeld *et al.* [Hain 10] avec faisceau de photons et une troisième publiée plus récemment en 2012 avec un faisceau de protonthérapie [Kim 12].

Chang *et al.* [Chan 08] ont étudié la combinaison de AuNP de 13 nm avec une irradiation d'électrons (faisceau de 6 MeV) pour le traitement de souris porteuses d'un mélanome (cellules B16F10, tumeur sous-cutanée). Les AuNP ont été injectées par voie intraveineuse avec 200 μ l de solution avec une concentration en AuNP de 20 nM. Une augmentation significative, mais néanmoins faible, de la survie moyenne des souris injectées avec une concentration de 1 g Au / kg de tissu, a été obtenue en comparaison du groupe ayant seulement reçu l'irradiation (25 Gy). Une étude des cellules tumorales excisées après le traitement a montré une augmentation du signal apoptotique, pour les animaux traités en association AuNP-irradiation, d'un facteur presque 2 par rapport à l'irradiation seule et d'un facteur 6 par rapport au groupe de contrôle. Le signal apoptotique est considéré comme un bon marqueur de la réponse de la tumeur à la radiothérapie. Les résultats sont montrés Figure 1.17.

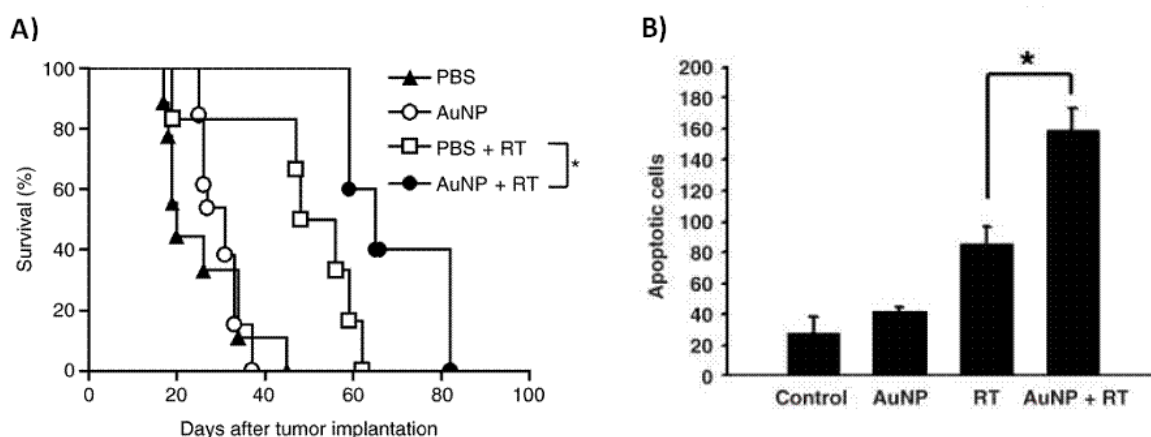


Figure 1.17: A : Courbe de survie Kaplan-Meier pour les différents groupes. B : Mesure quantitative du signal apoptotique sur les cellules tumorales analysées [Chan 08]

Les NP utilisées ici ont été localisées dans le cytoplasme des cellules. Cette étude montre que la combinaison de AuNP avec un faisceau d'électrons de haute énergie, tels que ceux utilisés en radiothérapie classique, peut apporter un bénéfice thérapeutique faible mais non négligeable.

En 2010, Hainfeld *et al.* [Hain 10] ont publié de nouveaux résultats d'études *in vivo* réalisées dans le but d'optimiser les paramètres de traitement, utilisant cette fois un modèle tumoral plus agressif (carcinome spinocellulaire SSCVII), toujours injecté en sous cutané à la cuisse et traité avec les mêmes AuNP de 1,9 nm. Dans cette étude

les auteurs envisagent différentes énergies RX (68 et 157 keV), différentes doses (30, 42, 44 et 50,6 Gy) et l'addition d'hyperthermie (chauffage de la zone à irradier à 44°C avant traitement). Les irradiations ont été réalisées au synchrotron de Brookhaven (BNL) avec des faisceaux présentant une largeur spectrale de quelques dizaines de keV. Quelques résultats sont montrés Figure 1.18.

Sans chauffage, la meilleure efficacité de traitement a été obtenue, en présence d'AuNP, avec un faisceau de 68 keV à 42 Gy. Cette combinaison a apporté une survie à long terme (survie > 200 jours) de 67 % contre 25 % sans AuNP (cf. Figure 1.18-A et B) et 14 % avec 30 Gy (en présence de AuNP). À 157 keV la survie à long terme est aussi plus faible et s'élève à 29 % (44 Gy), contre 0 % sans AuNP (cf. Figure 1.18-C et D).

Une réflexion physique peut être faite pour essayer d'expliquer la réponse au traitement bien meilleure pour 68 keV que pour 157 keV, que ce soit en termes de survie ou de temps de croissance de la tumeur avec AuNP.

À 157 keV, les ionisations de l'or se font principalement sur la couche K (80,7 keV), pour laquelle le processus de réorganisation atomique est radiatif à 96 % et ne contribue donc pas, ou peu, à la dose déposée dans la tumeur. Les photoélectrons K ayant une énergie de 76,3 keV, seulement 48 % de l'énergie des photons primaires est disponible pour la contribution de la dose à la tumeur. Au contraire, à 68 keV l'interaction photoélectrique est plus probable sur la couche L (énergie moyenne de 13,33 keV) pour laquelle le processus de réorganisation est radiatif entre 10 et 30 % des cas. Il y a donc dans 70 à 90 % des cas, émission d'électrons de basse énergie (< 13 keV) lors de réorganisations de type Auger ou Coster-Kronig, dont le parcours dans l'eau ne dépasse pas 4 μm . Les photons de fluorescence étant aussi de relativement basse énergie (environ 10 keV) leur libre parcours moyen est de l'ordre du millimètre et peuvent donc déposer la majeure partie de l'énergie dans une tumeur de quelques centimètres. La quasi totalité de l'énergie transmise par les photons primaires est ainsi disponible pour la contribution de la dose à la tumeur.

L'utilisation de l'hyperthermie combinée à une irradiation, avec ou sans AuNP, a par ailleurs permis d'obtenir d'excellents résultats puisque toutes les souris ont survécu à long terme après un chauffage de 20 min à 44°C, sans observer aucun dommage des tissus chauffés (cf. Figure 1.18-E/F). L'effet de l'hyperthermie peut être attribué à l'altération qu'elle produit sur la vascularisation de la tumeur pouvant augmenter la mort des cellules hypoxiques déjà mal nourries, situées au cœur de la tumeur, pendant que l'irradiation agit en parallèle plus efficacement sur les cellules périphériques en activité.

Une dernière étude, publiée par Kim *et al.* [Kim 12] en 2012, a montré l'efficacité thérapeutique de nanoparticules métalliques (or et fer) combinées à un traitement de protonthérapie. Des souris porteuses de tumeurs sous-cutanées (cellules tumorales de type CT26) au niveau du flanc ou de la cuisse ont été traitées avec différentes combinaisons de traitements. Les irradiations ont été réalisées à partir d'un faisceau de protons de 40 MeV, pour un seul pic de Bragg localisé différemment par rapport

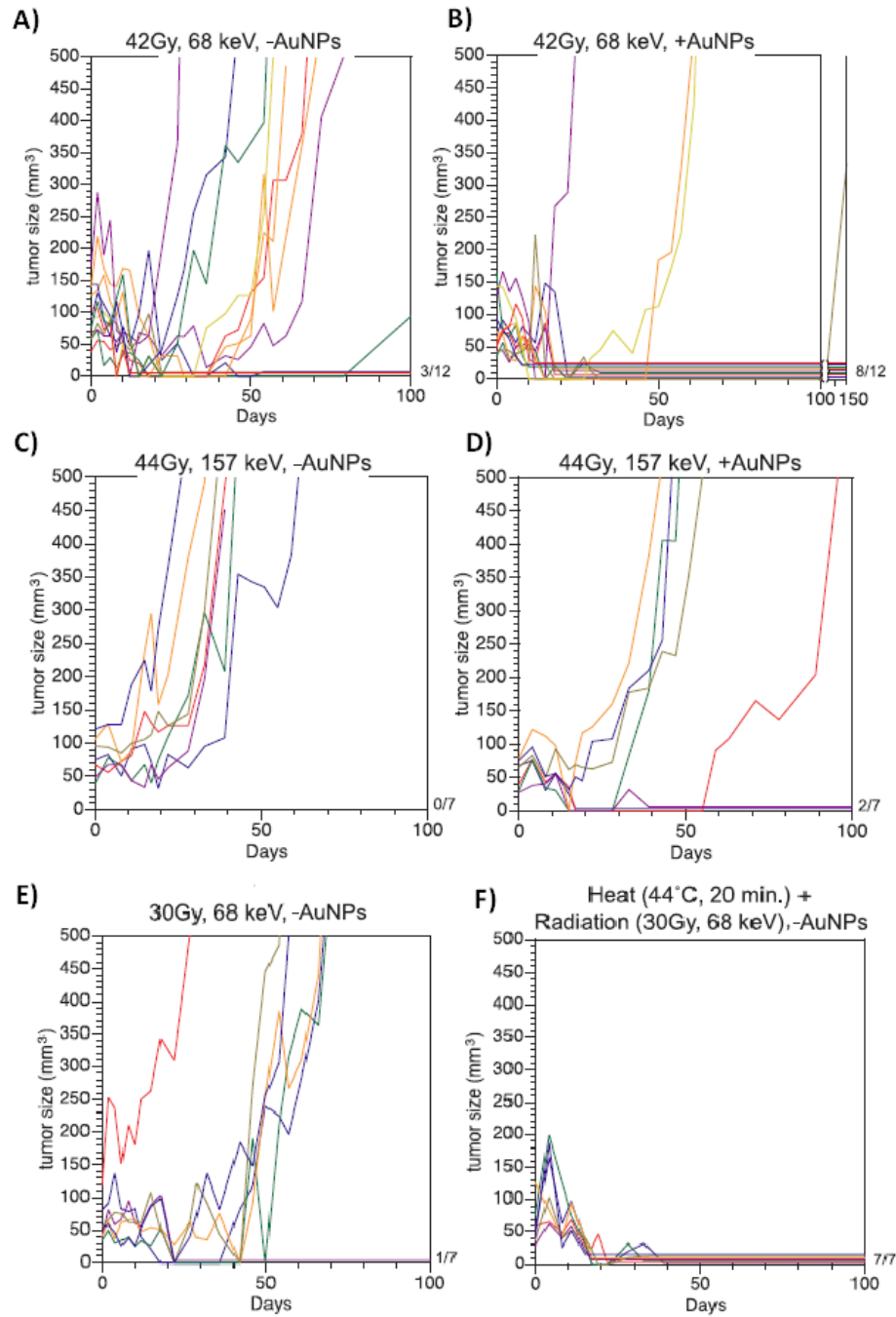


Figure 1.18: Résultats d'évolution de la taille de tumeur dans le temps pour différents cas de traitement. Une couleur correspond à un animal [Hain 10]

à la tumeur : avec absorption totale du pic de Bragg dans la zone la plus profonde de la tumeur pour la localisation du flanc (APBP pour *fully absorbed pristine bragg peak*) et avec un faisceau traversant la tumeur, le pic de bragg étant situé après le tissu, pour la localisation de la cuisse (TPBP pour *traversing pristine bragg peak*). Le schéma représentant ces deux conditions d'irradiation peut être trouvé en Figure 1.19-

A. Des nanoparticules d'or et de fer ont été injectées par voie intra-veineuse 24 h avant irradiation avec des concentrations de 100 et 300 mg/kg de tissu. Les animaux ont reçu des doses par fraction unique de 41 Gy (au niveau du pic de bragg) dans le cas des irradiations APBP et de 10, 21 et 31 Gy dans le cas des irradiations TPBP. Les résultats de survie à long termes (jusqu'à 300 jours) des différents groupes de souris (contrôle, irradiation seule ou combinaison d'irradiation avec nanoparticules) peuvent être trouvés en Figure 1.19-B sur une courbe de survie Kaplan-Meier.

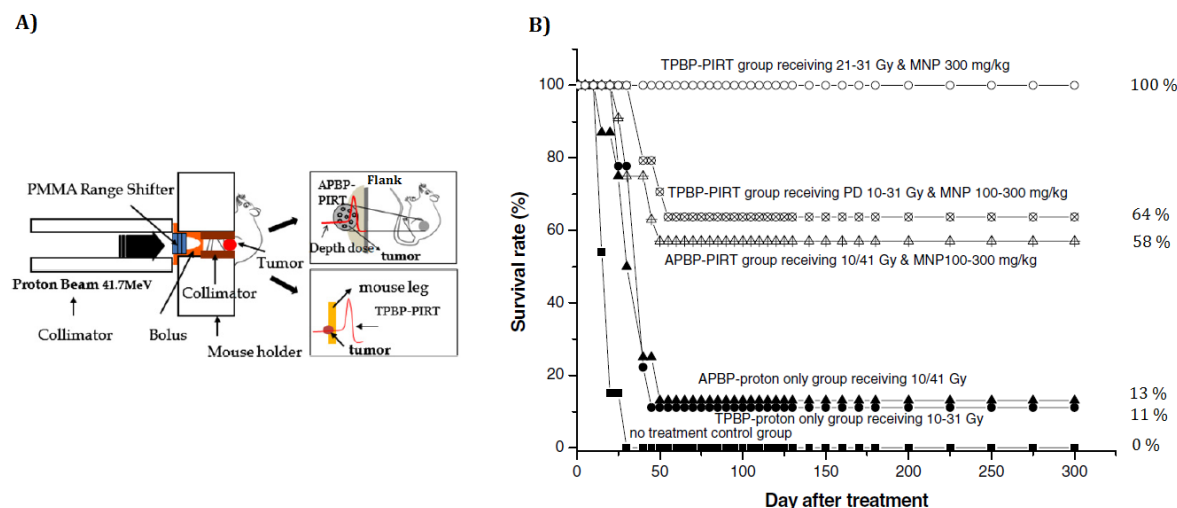


Figure 1.19: A : Schéma représentant les deux types d'irradiation des souris avec un faisceau de protons de 41,7 MeV : absorption totale du pic de Bragg dans la tumeur (APBP, flank) ou faisceau traversant (TPBP, cuisse). B : Courbe de survie Kaplan-Meier pour les différents groupes de souris [Kim 12]

Nous pouvons voir sur ce graphique que des augmentations importantes de survie sont obtenues lors de la combinaison d'une injection de AuNP ou FeNP 24 h avant irradiation par faisceau de protons. En effet, les survies obtenues à long termes pour les groupes traités avec nanoparticules s'étendent de 58 % (APBP) à 64-100 % (TPBP, selon la dose reçue) contre seulement 11 % (APBP) et 13 % (TPBP) pour les groupes ayant reçu une irradiation proton seulement.

D'après les auteurs, cette efficacité en présence de nanoparticules métalliques serait associée à la production d'un grand nombre de photons et électrons de basse énergie, issus des relaxations atomiques des atomes composant les NP après ionisation, qui seraient responsables d'une augmentation locale de dose importante. C'est ce qu'ils appellent la PIRT pour *particle induced radiation therapy*.

Une autre équipe avait démontré *in vitro* l'amélioration thérapeutique des faisceaux de protons en présence de AuNP [Polf 11]. En irradiant des cellules cancéreuses (lignée humaine d'un carcinome de prostate DU145) avec des AuNP internalisées (environ 1 ng d'or par cellule), les auteurs ont obtenu une augmentation de l'efficacité biologique relative (EBR, cf. section 2.1.5.5) de la protonthérapie jusqu'à 20 % par rapport à

l'irradiation sans AuNP.

Cette approche est donc prometteuse pour améliorer l'efficacité biologique de la hadronthérapie, les faisceaux d'ions apportant déjà une EBR importante par rapport aux faisceaux de photons.

1.3.1.4 Bilan concernant les nanoparticules d'or

Pour conclure sur les expérimentations concernant les nanoparticules, tous les auteurs cités ont démontré l'efficacité *in vivo* et *in vitro* de la radiothérapie en présence de AuNP et de nanoparticules métalliques de manière générale (Au, Pt, Fe) quel que soit le type de rayonnement utilisé : photons, électrons et ions légers. L'efficacité des AuNP semble plus importante avec un faisceau de photons de basse énergie (de l'ordre du keV) qu'avec un faisceau de radiothérapie classique (de l'ordre du MeV) et avec des AuNP pouvant intégrer le cytoplasme des cellules.

La compréhension des processus fondamentaux impliqués dans ces effets de radiosensibilisation nécessite cependant le rapprochement de ces expériences avec des modèles théoriques, les codes Monte Carlo étant les plus utilisés pour ce genre d'études.

1.3.2 Études réalisées par simulation Monte Carlo

De nombreuses études utilisent la simulation Monte Carlo (MC) comme outil de compréhension des phénomènes de radiosensibilisation liés aux éléments lourds. Elles s'intéressent à des aspects aussi variés que les phénomènes physiques, radiobiologiques et chimiques associés à cette radiosensibilisation, ainsi qu'à des calculs de doses et d'interactions particule-matière aux échelles macroscopique, micrométrique et nanométrique.

Ne seront citées dans cette section que les études, parmi les plus récentes, concernant l'utilisation des nanoparticules (NP) et en particulier des NP d'or comme agent de sensibilisation des rayonnements.

Néanmoins, tous les auteurs qui se lancent dans la thématique de la simulation MC des nanoparticules se trouvent confrontés à plusieurs problèmes : d'une part, la complexité rapidement croissante de la géométrie entraînant un temps de calcul très long pour obtenir une statistique correcte, d'autre part la disponibilité, dans les codes MC, de sections efficaces adaptées pour la précision de transport des particules à l'échelle du nanomètre.

Ainsi, parmi les études MC concernées, seules quelques-unes considèrent réellement la géométrie des NP. Nous ferons la différence dans cette section, entre les études qui approximent les AuNP à un mélange homogène d'atomes d'or et de molécules d'eau et celles qui considèrent la forme des NP.

1.3.2.1 Travaux considérant un mélange homogène or-eau

Suivant de près l'expérience pionnière de Hainfeld *et al.* [Hain 04], une première étude MC, réalisée par Cho en 2005 [Cho 05], a permis d'obtenir une estimation de l'augmentation de la dose dans un fantôme d'eau contenant une tumeur superficielle chargée en or. Le paramètre de concentration en or dans la tumeur et dans les tissus sains a été choisi de manière à se rapprocher des conditions expérimentales de l'expérience de Hainfeld (7 et 2 mg d'or par gramme de tissu respectivement). Le facteur d'augmentation de dose (DEF) a été calculé comme le rapport de la dose moyenne dans une tranche du volume avec et sans or. Ces calculs sont réalisés avec le code BEAMnrc/DOSXYZnrc (basé sur EGS) selon un modèle macroscopique, avec pour approximation une répartition parfaitement uniforme de l'or dans la tumeur. La Figure 1.20 représente le résultat du DEF en fonction de la profondeur.

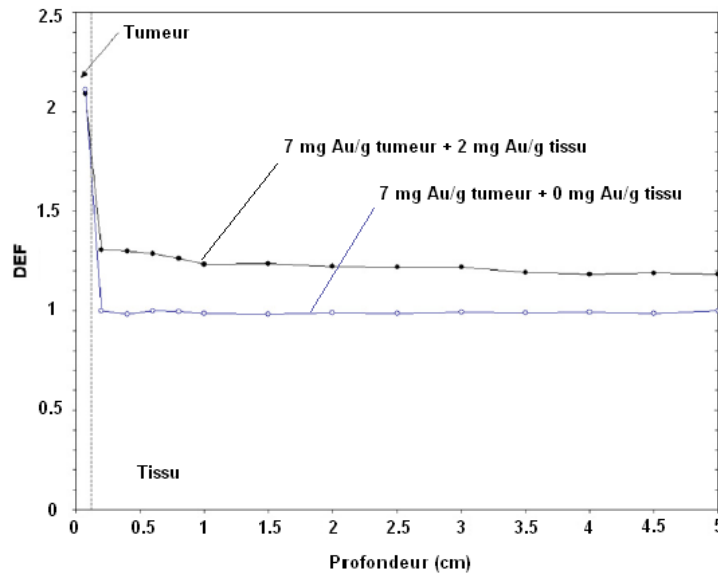


Figure 1.20: Facteur d'augmentation de dose calculé par simulation MC le long de l'axe central d'un faisceau RX de 140 kVp avec une concentration en or de 7 mg Au / g tissu dans une tumeur superficielle et de 2 (noir) ou 0 (bleu) mg Au / g tissu dans le tissu sain [Cho 05]

Avec cette configuration, un DEF de 2,1 a été calculé dans la tumeur avec un faisceau RX de 140 kVp et de 1,3 dans les tissus sains au voisinage de la tumeur dans le cas où les tissus contiennent 2 mg Au/g tissu. Le résultat est encourageant mais l'augmentation de dose, obtenue par simulation, reste cependant environ deux fois plus faible que l'augmentation de survie des souris dans l'expérience de Hainfeld (un facteur 4,3 par rapport à l'irradiation seule pour ces mêmes concentrations en or). Cela confirme que la seule augmentation de la dose physique n'explique pas l'impact observé d'un point de vue biologique. L'auteur souligne qu'il semble nécessaire dans des études ultérieures de considérer une représentation plus réaliste de la distribution des nanoparticules d'or à une échelle microscopique et d'autre part d'être capable d'estimer une dose à une échelle micro et nanométrique pour mieux comprendre

l'origine physique d'un tel impact radiobiologique.

En suivant le même type de modèle géométrique que Cho, quelques autres travaux récents peuvent être cités [McMa 08, Heuv 10, Jone 10, Mont 09].

Les travaux de McMahon *et al.*, Van den Heuvel *et al.* et Montenegro *et al.* ont considéré un modèle de tumeur profonde avec irradiation par un faisceau externe, alors que les travaux de Jones *et al.* sont basés sur un modèle de curiethérapie avec une source centrée dans la tumeur et réalisant une étude microdosimétrique, à la différence des trois premiers qui sont restés à une précision millimétrique.

D'une façon pratique, McMahon *et al.* [McMa 08] ont fait une étude dosimétrique MC avec le code Geant4. Ils proposent dans ce sens une référence permettant de comparer l'efficacité de traitement, en termes de dose physique, pour différentes sources de rayonnement (LINAC à 15 MV et tube RX à 150 kVp) et différentes profondeurs de la tumeur chargée avec 10 mg/ml d'or. Une validation des calculs est réalisée avec un fantôme anthropomorphe du cou.

Les auteurs soulignent cependant qu'en aucun cas ce modèle ne s'applique à une quelconque efficacité biologique ou à des calculs microdosimétriques autour des nanoparticules. Il suggère que l'étude des électrons produits et de la dose locale à l'échelle de la nanoparticule est probablement une clé de la compréhension de l'effet de radiosensibilisation. Ces travaux ont été publiés très récemment [McMa 11a] et sont détaillés dans la section 1.3.2.2.

Van den Heuvel *et al.* [Heuv 10] ont réalisé une comparaison des dépôts de dose avec le code MCNPX, dans une démarche d'optimisation selon différents paramètres : la concentration en or dans la région tumorale (de 0 à 10 %), l'énergie (monoénergies de 10 à 200 keV), l'origine des électrons qui contribuent à la dose et leur impact radiobiologique en termes de dommages à l'ADN (à partir d'un modèle de Semenenko and Stewart [Seme 06]).

Parmi les différents résultats de cette étude, celui de la contribution des électrons Auger et Coster-Krönig est particulièrement intéressant. Une étude en fonction de l'énergie d'irradiation a permis de mettre en évidence un maximum de la production de ces électrons à 90 keV et un maximum local deux fois plus faible à 40 keV. Mais, considérant la contribution au dépôt d'énergie, il a été trouvé que la plus grande partie est déposée par les photoélectrons (électron des interactions photoélectriques et Compton), d'environ un ordre de grandeur par rapport aux électrons Auger.

Une relation linéaire a été obtenue entre le DEF et la concentration en or, dans une fourchette de 0 à 10 % d'or massique, selon la relation : $DEF = 1 + 1,26 \times \text{concentration}$. Cette relation peut être facilement utilisée dans une démarche d'optimisation clinique.

Il faut noter que les résultats de la contribution à la dose des différents types d'électrons dépendent de l'échelle considérée puisque les électrons Auger et Coster-Krönig sont globalement de plus faible énergie que les photoélectrons.

Lechtman *et al.* [Lech 11] et McMahon *et al.* [McMa 11a] trouvent des résultats

complémentaires en faisant le même type d'études à une échelle sub-micrométrique et en considérant la géométrie des NP. McMahon *et al.* trouvent par exemple une contribution bien plus importante de la dose due aux électrons Auger autour d'une AuNP (cf. partie 1.3.2.2).

L'originalité des travaux de Montenegro *et al.* [Mont 09] a été de s'intéresser aux effets de résonance de l'excitation atomique de l'or à certaines énergies particulières lorsqu'il se trouve à l'état d'ion. Les auteurs ont ainsi implémenté dans le code Geant4 les sections efficaces particulières de résonance pour tenir compte de cet effet.

Trois énergies caractéristiques de faisceau de photons monoénergétiques ont été testées et comparées : 68 keV (énergie d'excitation d'un électron K vers la couche L), 82 keV (ionisation principale en couche K) et 2 MeV (intensité maximale d'un faisceau RX provenant d'un accélérateur linéaire d'électron à 6 MV). Des DEF ont été calculés dans une région, chargée avec un mélange or-eau homogène, contenue dans un fantôme d'eau. L'énergie déposée en profondeur est calculée par tranches de 1 mm. La Figure 1.21 reprend les principaux résultats de ces travaux.

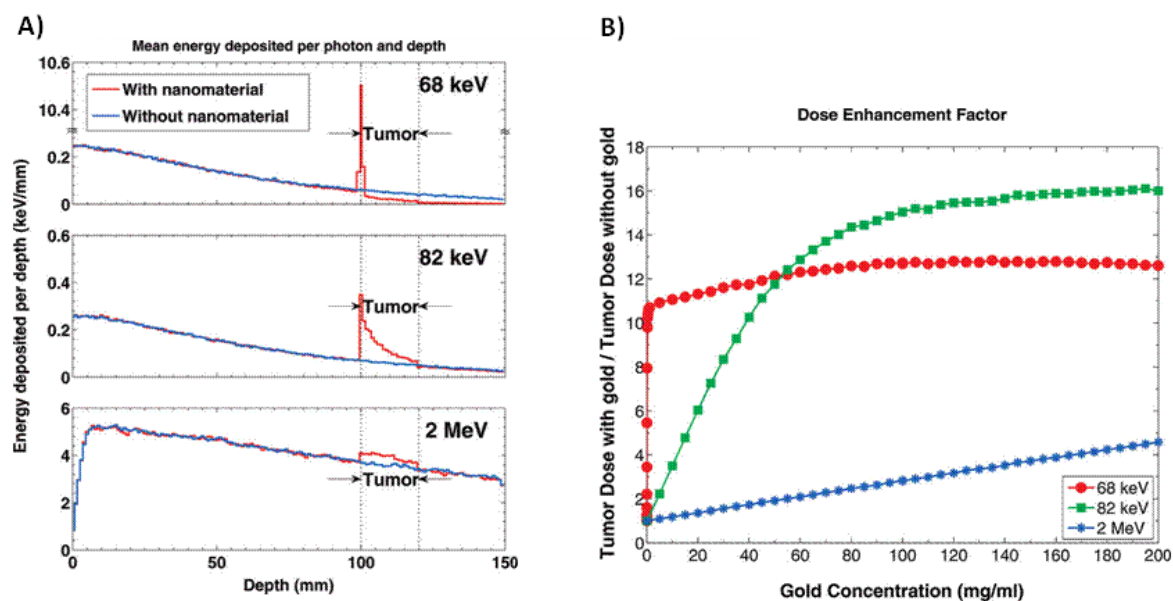


Figure 1.21: A : Comparaison, pour trois énergies d'irradiation, de l'énergie moyenne déposée en fonction de la profondeur dans le fantôme d'eau avec 5 mg d'or / ml dans la région de la tumeur (rouge) et sans or (bleu). B : DEF calculé pour différentes concentrations en or dans la tumeur et pour trois énergies d'irradiation [Mont 09]

D'après ces calculs, une augmentation d'un facteur 10 du dépôt d'énergie est obtenue à 68 keV dans la tumeur chargée avec 5 mg d'or / ml par rapport à 82 keV et 2 MeV. Ce résultat très impressionnant nécessite cependant d'être corrélé avec des résultats expérimentaux, ce qui n'a pas été fait à ce jour. Seule l'étude de Hainfeld [Hain 10] a étudié cette énergie particulière de 68 keV et montré une

augmentation de la survie sur petit animal, sans pour autant pouvoir en déduire s'il s'agit d'un effet de résonance K.

Cette étude soulève quelques questions quant à une éventuelle application thérapeutique. En effet, les conditions de validité de la technique supposent une pré-ionisation des atomes d'or avant irradiation à 68 keV. D'après Pradhan *et al.* [Prad 09] l'utilisation d'une source de rayonnement monochromatique « suffisamment intense » pourrait suffire à créer localement un plasma d'ions et exciter à la fois les transitions atomiques K. Les études citées ne spécifient pas, cependant, le flux photonique nécessaire pour observer cet effet. L'hypothèse initiale considérant la totalité des atomes d'or ionisés semble difficilement réalisable en pratique et nécessite d'être testée expérimentalement, par exemple avec une source synchrotron.

En 2011, nous avons testé la méthode sur la ligne médicale de l'ESRF par absorption du faisceau dans une feuille d'or en faisant varier l'énergie de 60 à 82 keV par pas de 20 eV. Aucun effet n'a pu être observé, ceci a été attribué au flux trop peu intense du faisceau, qui était d'environ 10^{13} photons/cm². Après discussion avec les auteurs, il semblerait que le flux de photon nécessaire pour atteindre ces résonances devrait être en réalité de l'ordre de 10^{23} photons/s/cm² [Vink 12], ce que peu d'instruments permettent de faire à de telles énergies.

Cette expérience préliminaire a permis d'entamer une collaboration entre l'équipe de Pradhan et celle de l'INSERM pour tenter de mettre en évidence un tel effet. Dans ce cadre, un projet d'expérience sur une source RX par laser très intense située en Californie (Linac Coherent Light Source, plateforme MEC : Matter in Extreme Conditions) a été déposé, ce qui permettrait d'obtenir un flux de photons suffisamment intense pour observer les résonances K sur des atomes de fer et de titane (énergie de résonances de 4 à 8 keV). Une telle source peut fournir un flux RX environ 12 ordres de grandeurs supérieur à celui de l'ESRF. Néanmoins, le flux de photons nécessaire pour observer l'effet de résonances K α est tellement intense qu'il semble difficile d'envisager une application sur du vivant sans risquer de vaporiser autant le tissu environnant que l'élément lourd visé. De plus, les énergies accessibles avec ce type de source restent inférieures à 8 keV, et les possibilités d'accès sont aussi une difficulté rendant difficilement envisageable pour le moment une application clinique.

Jones *et al.* [Jones 10], dans la suite de la première étude MC de leur équipe ([Cho 05]), sont passés à une considération microdosimétrique de la présence de l'or dans le cas d'une application de curiethérapie en comparant plusieurs sources (¹²⁵I, ¹⁰³Pd, ¹⁶⁹Yb, ¹⁹²Ir, 50 kVp, et une haute énergie 6 MV). En assimilant une nanoparticule d'or à un seul atome, ils ont ainsi calculé, avec les codes EGSnrc et NOREC (pour le transport « event-by-event »), les doses radiales obtenues en présence d'or. Ces résultats sont présentés sur la Figure 1.22. Le résultat de cette étude montre une augmentation de plus de 2 ordres de grandeur de la dose due à l'or, à cause de la forte augmentation de la production d'électrons lorsque l'irradiation est

à basse énergie. Cette augmentation semble porter jusqu'à quelques micromètres de la source et une augmentation encore significative est obtenue jusqu'à 50 μm . La haute énergie permet aussi d'augmenter la dose, d'un facteur supérieur à 8 jusqu'à quelques micromètres de la source.

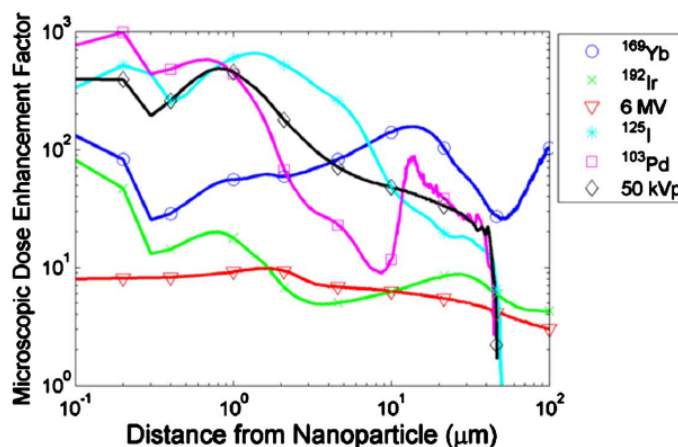


Figure 1.22: Rapport des doses radiales provenant d'une « nanoparticule d'or » comparé à une hypothétique nanoparticule d'eau pour les six énergies [Jones 10]

Afin d'appliquer leurs calculs à un cas réaliste, les auteurs ont, dans un deuxième temps, superposé les doses radiales à des images réalisées par microscopie électronique, sur lesquelles les NP sont visibles. De cette manière, des courbes d'« iso-DEF » peuvent être visualisées directement sur l'image. Le résultat obtenu peut être trouvé en Figure 1.23.

Il a ainsi été montré que pour des AuNP situées dans la vascularisation de la tumeur, un DEF de l'ordre de 20 peut être obtenu à l'intérieur des vaisseaux et une augmentation de dose supérieure à 5 % jusqu'à 10 μm de portée (30 μm pour la source d' ^{169}Yb , énergie d'émission principale = 93 keV).

Ces résultats particulièrement intéressants constituent une avancée significative vers la compréhension de l'augmentation de dose due aux AuNP à l'échelle micrométrique avec la démonstration d'une application réaliste sur cellules. Il reste maintenant à considérer l'aspect des nanoparticules pour tenir compte de l'effet d'écrantage dû à l'épaisseur de l'or qui retient une partie des électrons produits à l'intérieur des NP. Tenant compte de cette modification du spectre d'électrons sortant d'une AuNP, les résultats de Jones *et al* [Jones 10], en termes d'amplitude de DEF et de portée devraient certainement se trouver modifiés.

Ces considérations seront développées dans la partie suivante 1.3.2.2, ainsi que dans la partie « résultats » de cette thèse (cf. chapitre 4).

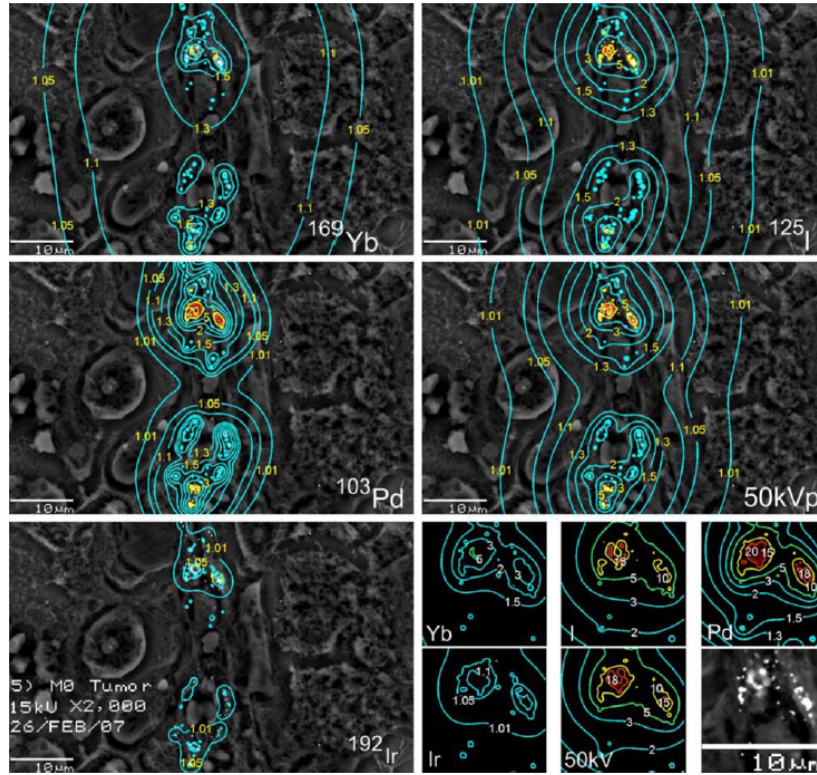


Figure 1.23: Application du calcul de DEF sur une distribution réaliste de AuNP dans un tissu [Jones 10]

1.3.2.2 Travaux considérant la forme des nanoparticules

Zhang *et al.* [Zhan 09] ont fait une étude dosimétrique macroscopique (échelle du centimètre) avec le code Monte Carlo Geant4 en tenant compte cette fois-ci de la géométrie des nanoparticules. Ceci sous-entend un nombre de volumes à considérer, ainsi qu'un temps de simulation, extrêmement importants. L'auteur mentionne 10^{13} AuNP simulées pour atteindre une concentration en or de 9,7 % dans le volume cible et un temps de calcul d'environ 120 h sur 10 processeurs. Ce travail visait à comparer la dose calculée entre un modèle géométrique contenant un mélange or-eau homogène (comme dans l'étude de Cho [Cho 05]) et un modèle tenant compte de la forme des AuNP dans le volume. La géométrie simulée est représentée sur la Figure 1.24-A. Il s'agit d'une source d' ^{192}Ir de curiethérapie (émissions gamma principales à 317 keV et 468 keV) placée au centre d'un fantôme d'eau sphérique et irradiant un volume cible de 1 cm^3 , ce volume étant rempli successivement d'eau, d'un mélange homogène or-eau et d'un réseau de nanoparticules sphériques de 100 nm de diamètre dans de l'eau. La Figure 1.24-B montre le résultat des profils de dose calculés pour permettre la comparaison des trois conditions.

L'étude montre que le calcul avec le modèle de mélange homogène or-eau surestime l'augmentation de dose dans le volume cible jusqu'à une erreur de 16 % (à 20 mm) par rapport au modèle plus proche de la réalité tenant compte des AuNP. Ces résultats

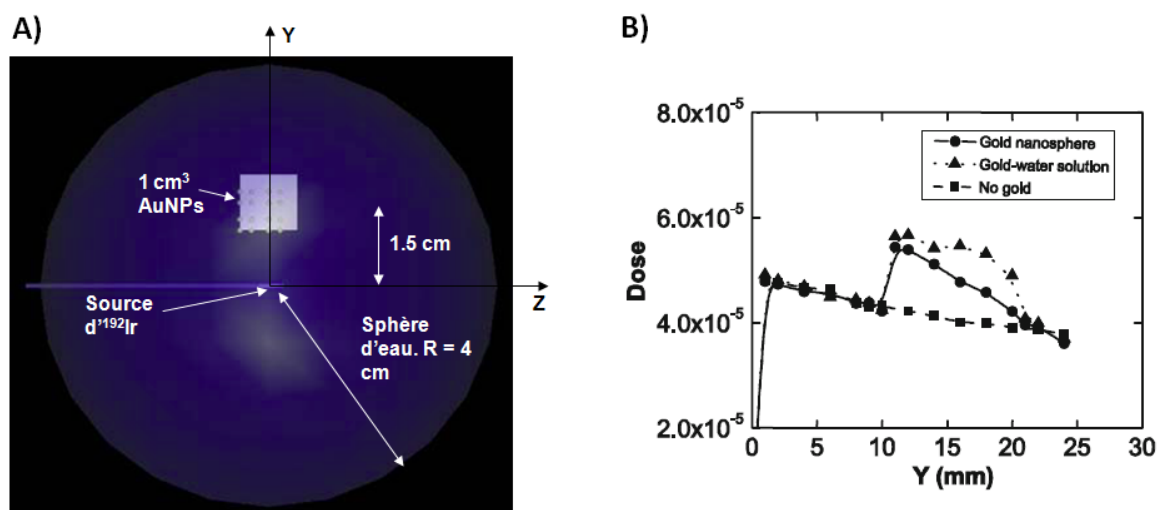


Figure 1.24: A : Schéma de la géométrie simulée. B : Comparaison de profils de dose calculés selon l'axe Y considérant un faisceau parallèle de photons arrivant sur le volume cible pour les trois conditions [Zhan 09]

confirment ainsi l'importance de la prise en compte de la structure des nanoparticules dans les codes MC pour le calcul de dose macroscopique, comme le soulignait déjà Cho en 2005 [Cho 05]. Cependant, on remarque que l'augmentation de dose macroscopique calculée par Zhang *et al.* [Zhan 09] s'éloigne encore plus de l'effet radiobiologique observé par Hainfeld *et al.* sur le vivant [Hain 04]. La conclusion qui ressort de ce type d'études [Cho 05, McMa 08, Heuv 10, Zhan 09] tend vers la nécessité de descendre de plusieurs ordres de grandeurs dans la précision des calculs pour tenter de prédire l'effet radiobiologique.

Les travaux présentés dans la suite s'attèlent justement à cette problématique, comme l'avait initiée Jones *et al.* [Jones 10], mais à une échelle sub-micrométrique en modélisant les AuNP [Cart 07, Leun 11, Chow 12, Lech 11, McMa 11a].

Carter *et al.* [Cart 07] ont fait une première étude autour d'une seule AuNP pour tenter de comprendre si la distribution géométrique de dépôt d'énergie dont elle est responsable est d'une dimension nanométrique, microscopique ou macroscopique, afin de déterminer par exemple l'éventuelle nécessité de vectoriser les AuNP vers des cibles cellulaires stratégiques.

Dans ce but, une étude expérimentale a été faite sur plasmide combinée à une étude MC pour étudier le comportement de AuNP de diamètres 3 et 6 nm irradiés avec un tube RX de 100 kVp. La confrontation des résultats met clairement en évidence la dimension nanométrique du dépôt d'énergie autour d'une AuNP dû à la forte production d'électrons de très basse énergie, principalement produits par effet Auger et Coster-Krönig (parcours $< 100\text{ nm}$), dont le nombre diminue significativement en passant

d'un diamètre de 3 à 6 nm. Ces électrons pourraient être responsables de l'efficacité biologique dans la mesure où ils sont créés à quelques nanomètres de l'ADN puisqu'ils peuvent produire une forte densité locale de radicaux, capables de causer des dommages létaux à l'ADN.

Il est intéressant de remarquer que ces effets mis en évidence ne peuvent être utiles *in vivo* que si les nanoparticules se trouvent très proches de l'ADN nécessitant une vectorisation dans le noyau des cellules. Actuellement, une seule équipe a montré la vectorisation possible de AuNP et PtNP dans les noyaux cellulaires [Lewi 10]. Des expériences ont été réalisées à l'ESRF pour tenter de confirmer leur efficacité thérapeutique *in vivo* mais sont encore en cours.

L'intégration des NP dans les cellules est une tâche chimiquement et biologiquement compliquée car elles apportent une toxicité intrinsèque supplémentaire par rapport à des agents qui resteraient à l'extérieur. Pour une application clinique il faut donc chercher le bon compromis entre efficacité thérapeutique et toxicité. Des études MC supplémentaires, visant à l'optimisation de paramètres d'irradiation et des NP, pourraient être utiles aussi dans le cas où elles se trouvent à une distance plus grande des cibles stratégiques cellulaires. Ce point a été étudié dans cette thèse.

Leung *et al.* [Leun 11] et Chow *et al.* [Chow 12] ont fait tous deux le même type d'analyse du comportement d'une AuNP unique sous irradiation, pour différents faisceaux de photons, dont trois polychromatiques, dans le premier cas (50 kVp, 250 kVp, cobalt-60, et 6 MV) et de faisceaux mono-énergétiques d'électron dans le deuxième cas (50 keV, 250 keV, 1 MeV et 4 MeV).

Les études ont été réalisées avec le code Geant4 pour trois diamètres de AuNP (2, 50 et 100 nm) et ont porté sur différents paramètres tels que la quantité d'électrons produits, leur parcours, l'énergie qu'ils déposent et le type de processus qui les a créés, chaque fois normalisés par rapport à la réponse dans l'eau.

Dans les deux cas, une augmentation du parcours moyen des électrons produits est obtenue avec l'augmentation du diamètre de la AuNP (à cause de l'auto-absorption des électrons de plus basse énergie) ainsi qu'avec l'augmentation de l'énergie de faisceau. Cependant les parcours effectifs sont bien plus faibles pour les faisceaux d'électrons (de 0,5 à 15 μm) que pour les photons (de 2 μm à 1 mm). Ceci entraîne une influence beaucoup plus marquée de la taille des AuNP pour les faisceaux d'électrons, influence d'autant plus importante que l'énergie est élevée. Pour les électrons, le diamètre de 2 nm est donc le plus efficace en termes de dose déposée autour de la NP (une fois normalisée à la masse d'or) alors que les faisceaux de photons interagissent plus avec une AuNP de 100 nm la rendant plus efficace pour le dépôt d'énergie.

Les deux études s'accordent sur une efficacité plus importante des basses énergies (kV) comparée aux hautes énergies (MV), conclusion cohérente avec les autres publications.

En comparant les taux d'électrons secondaires émis par gramme d'or et les doses déposées, il semble que les photons soient plus efficaces pour augmenter la dose en présence de AuNP.

Dans la même lignée, Lechtman *et al.* [Lech 11] sont allés un peu plus loin dans l'analyse de l'irradiation d'une AuNP en ajoutant le détail de l'origine des électrons et en combinant une pré-simulation macroscopique afin de considérer la modification du spectre en profondeur avant d'atteindre la AuNP. Le code MCNPX a été utilisé dans le cas macroscopique du fait des outils de réduction de variance disponibles et le code PENELOPE a été utilisé pour le cas des NP car il permet le transport détaillé des électrons, « interaction-par-interaction » (cf. section 2.3.3). De la même manière que les études d'optimisation précédentes, différents diamètres de AuNP et différentes sources photons ont été testées (même énergies que Jones *et al.*).

L'apport principal de cette étude, dont une partie des résultats peut être trouvée Figure 1.25, a été de détailler la contribution à la dose des particules secondaires.

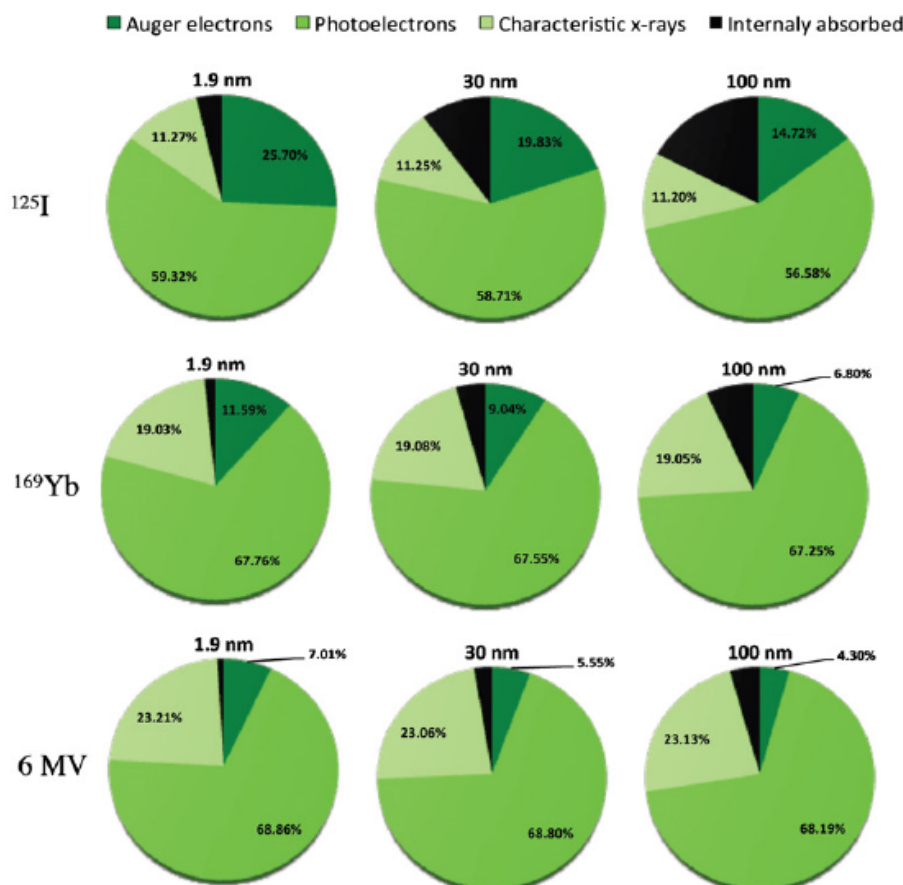


Figure 1.25: Contribution des différents types de particules secondaires pour trois énergies et trois diamètres de AuNP [Lech 11]

Nous pouvons remarquer que les quantités de photoélectrons et de photons de fluorescence varient peu avec le diamètre de la AuNP alors que la quantité d'électrons Auger diminue lorsque le diamètre augmente. Ce diagramme montre donc clairement que ce sont principalement les électrons Auger qui sont auto-absorbés à l'intérieur des

AuNP, et ce d'autant plus que l'énergie de faisceau est faible. Par ailleurs, l'augmentation de la quantité de photoélectrons et de fluorescence avec l'énergie de faisceau au détriment des électrons Auger apparaît clairement. Ceci est essentiellement dû aux interactions en couche K qui sont prépondérantes pour les énergies supérieures à 80,7 keV et pour lesquelles le taux de désexcitation radiative est de 96 %.

Dans tous les cas, les photoélectrons sont majoritairement produits et contribuent le plus à la dose à l'échelle du micromètre, mais les électrons Auger contribuent majoritairement à la dose à quelques centaines de nanomètres de la AuNP. La dose radiale obtenue pour les différentes énergies peut être trouvée Figure 1.26, où l'échelle est comparée à la taille d'une cellule.

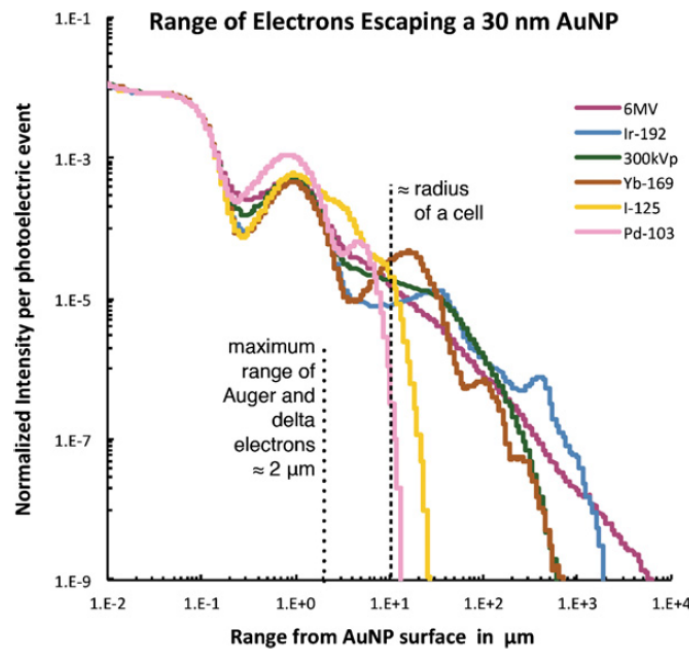


Figure 1.26: Dose radiale calculée à partir de la surface d'une AuNP de 30 nm pour les différentes énergies [Lech 11]

En conclusion les auteurs proposent deux stratégies thérapeutiques :

- Soit l'utilisation d'un faisceau d'énergie inférieure à la raie K de l'or dans le but de produire un grand nombre d'électrons de basse énergie et avec des AuNP de petites tailles. Mais cela nécessite de les cibler au plus près du noyau cellulaire.
- Soit l'utilisation d'un faisceau d'énergie supérieure à la raie K de l'or pour utiliser la plus forte production de photoélectrons de plus haute énergie, donc une localisation intracellulaire moins primordiale, mais nécessitant une concentration en or plus élevée pour une même amplitude de l'effet souhaité.

Toutes ces études de simulation MC n'ont, jusqu'à présent, jamais été corrélées directement avec des observations expérimentales mais ont plutôt servi de base à une

démarche d'optimisation de radiothérapie en présence de AuNP.

Le travail de McMahon *et al.* [McMa 11a] s'inscrit dans ce sens comme le premier à avoir corrélé un résultat expérimental de survie cellulaire avec des simulations par l'intermédiaire du Local Effect Model (LEM, [Scho 94, Elss 07]), modèle couramment utilisé pour quantifier l'effet radiobiologique dû aux ions.

Les auteurs ont étudié le même type de calculs de dose radiale autour des AuNP mais de façon plus précise, à l'échelle du nanomètre, en utilisant le module Geant4DNA du code Geant4 (cf. section 2.3.6). Ils ont ensuite réutilisé ces doses radiales comme base pour pouvoir quantifier un nombre de dommages létaux à la cellule avec le LEM. Les résultats les plus enthousiasmants sont présentés en Figure 1.27.

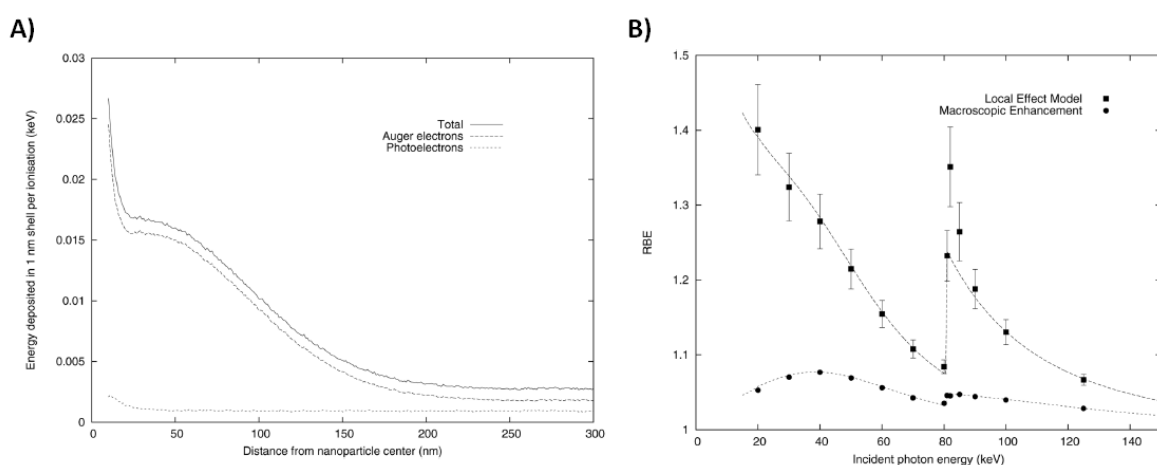


Figure 1.27: A : Dose radiale d'une AuNP de 20 nm irradiée à 40 keV. B : Comparaison entre les résultats de survie cellulaire (carrés pleins) en fonction de l'énergie de faisceau et la prédiction théorique (ligne pointillée) dans le cas de AuNP de 20 nm à 500 µg/ml [McMa 11a]

Il est intéressant de constater qu'à une échelle inférieure à 250 nm de la surface de la AuNP, ce sont les électrons Auger qui contribuent le plus à la dose (Figure 1.27-A), ce que n'avait pas complètement montré l'étude de Lechtman *et al.* [Lech 11]. C'est d'ailleurs sur cette base que les calculs de dommages létaux pour les prédictions de survie cellulaire sont faits, en mettant principalement en cause la production d'électrons Auger.

Nous pouvons constater à partir de la Figure 1.27-B que le modèle prédictif est très bon, sauf juste après la raie K où il sous-estime l'effet biologique. Ceci peut être attribué à la forte production de photoélectrons de faible énergie qui ne sont pas pris en compte dans le modèle, ce dernier ne considérant d'augmentation radiobiologique que pour les électrons Auger produits.

Actuellement, les équipes de Toronto [Chit 06, Chit 10, Leun 11, Lech 11, Chow 12] et de Belfast [McMa 08, Butt 10, McMa 11b, McMa 11a] semblent être les plus

avancées dans la thématique de la thérapie par photoactivation de nanoparticules d'or, d'un point de vue expérimental *in vitro* et d'un point de vue de modélisation.

1.4 Inscription du travail de thèse dans l'état de l'art

D'un point de vue relationnel, cette étude bibliographique aura permis d'entamer une collaboration avec l'équipe de Pradhan et Montenegro, menant à la demande d'une expérience commune avec l'INSERM, au Laser RX de très haute intensité en Californie.

D'un point de vue scientifique, nous pouvons nous rendre compte de l'attraction que la thématique suscite dans la communauté scientifique compte tenu de la densité de publications récentes, dont seule une partie, ciblée sur le sujet de thèse, est citée dans ce chapitre. Un engouement particulier s'est déclaré pour les nanoparticules d'or, principalement suite à l'expérience pionnière de Hainfeld *et al.* [Hain 04]. L'efficacité de cette thérapie a été démontrée *in vivo* [Hain 04, Hain 10, Chan 08, Kim 12], *in vitro* [Kong 08, Brun 09a, McMa 11b] et théoriquement, avec la faisabilité de l'augmentation de dose due à l'or [Cho 05, McMa 08, Zhan 09, Heuv 10]. Ces démonstrations permettent d'envisager un développement de la technique vers des essais cliniques.

Cependant, une meilleure maîtrise de la thérapie nécessite une compréhension en amont de l'effet de radiosensibilisation dû à la présence de AuNP, afin notamment d'optimiser au mieux les paramètres liés à la technique.

Dans le domaine plus particulier de la simulation des nanoparticules et de la nanodosimétrie, de nombreuses études ont apporté des éléments à la compréhension des phénomènes physiques liés à la radiosensibilisation due aux AuNP [Cart 07, June 10, Leun 11, Lech 11, McMa 11a].

Actuellement, il y a un consensus général sur le fait qu'une cause importante de la radiosensibilité est la forte production d'électrons de basse énergie émis par les AuNP lors de l'irradiation par un faisceau RX de basse énergie (keV). Des difficultés apparaissent cependant pour la corrélation avec l'impact biologique. Seule la publication très récente de McMahon *et al.* [McMa 11a] a permis de faire un lien direct entre le dépôt de dose physique et un résultat biologique *in vitro* en ajustant des paramètres du Local Effect Model, habituellement utilisé en hadronthérapie.

Parmi les différentes conclusions de la littérature, il existe cependant certaines divergences quant à la définition des « électrons de basse énergie ».

En effet, certains considèrent que l'impact radiobiologique des AuNP est principalement dû aux électrons de très basse énergie, c'est-à-dire inférieurs à la centaine d'eV, provenant des relaxations atomiques non-radiatives [Cart 07, McMa 11a]. Ces électrons sont connus pour être très réactifs au voisinage de molécules telles que l'ADN, pouvant causer des dommages par des mécanismes de dissociation moléculaire, même

avec seulement quelques eV, comme décrit par Léon Sanche *et al.* [Pan 03, Sanc 09]. Le rôle de ces mécanismes a aussi été démontré en présence de AuNP proches de l'ADN [Zhen 09, Xiao 11] et est pris en compte dans des codes Monte Carlo détaillés, dits à structure de trace, tels que Partrac, Celldose ou Geant4DNA.

Néanmoins nous avons vu précédemment que la production des électrons de très basse énergie nécessite d'avoir lieu à quelques nanomètres de la molécule cible ce qui peut poser des problèmes de faisabilité dans un cas clinique. Si ce mécanisme joue certainement un rôle prépondérant dans la combinaison concomitante de radiothérapie et de drogue de chimiothérapie composée d'éléments lourds comme le cisplatine [Zhen 09], il est moins évident dans le cas de nanoparticules qui restent à quelques micromètres du noyau cellulaire. Des travaux de simulation ont montré dans ce sens que les photoélectrons pouvaient jouer un rôle plus important que les Auger dans la radiosensibilisation à l'échelle de quelques micromètres [Heuv 10, Lech 11].

Il faut donc retenir pour ce travail de thèse que la notion d'échelle est très importante, entraînant des conclusions variées selon les modèles biologiques étudiés.

Le sujet de thèse a été défini à partir de cette revue bibliographique pour tenter de répondre à un manque dans les études de simulation autour de la thérapie par photoactivation de nanoparticules. Nous avons étudié, dans ce travail de thèse, deux éléments lourds sous forme de nanoparticule ou d'agent de contraste : le gadolinium ($Z=64$) et l'or ($Z=79$). Très peu d'études ont été faites valorisant l'utilisation de nanoparticules de gadolinium (GdNP) pour la thérapie. Elles suscitent en effet plus d'intérêt pour le diagnostique du fait de leurs propriétés paramagnétiques permettant de les imager par IRM. Une étude récente sur des « ultra small » nanoparticules composées de gadolinium, synthétisées par la startup NanoH (Lyon), a montré leur intérêt pour l'imagerie *in vivo* [Mila 12]. Des NP similaires ont été utilisées pour la partie expérimentale de la thèse, réalisée à l'ESRF.

Les travaux se sont donc orientés vers la comparaison par la modélisation des GdNP et des AuNP et de leur influence au niveau cellulaire. Une étude MC a déjà été faite pour la comparaison de ces deux éléments mais seulement en termes d'augmentation de dose macroscopique [Bahr 12]. La co-tutelle de thèse INSERM a permis d'orienter les simulations, dans le but de trouver des corrélations entre des observables physiques calculées et des résultats expérimentaux sur modèle cellulaire.

Le chapitre 2 contient dans un premier temps, une description des grandeurs et interactions primaires induites par les rayonnements ionisants, nécessaires à la compréhension de la thèse. Puis les méthodes expérimentales utilisées lors des expériences réalisées à l'ESRF sont décrites dans une deuxième partie. Enfin, les codes Monte Carlo utilisés dans la thèse (PENELOPE et Geant4) sont présentés.

Les chapitres 3 et 4 présentent ensuite les résultats des études de simulation et des

études expérimentales.

Le chapitre 3 est une étude portant sur l'échelle cellulaire (échelle micrométrique). Dans un premier temps nous avons décrit les résultats expérimentaux obtenus à l'ESRF, en termes d'augmentation de la radiosensibilité cellulaire en présence de nanoparticules de gadolinium. Nous avons ensuite orienté les simulations vers les conditions expérimentales afin de chercher les causes physiques de la radiosensibilité observée. Il a été question dans cette partie, d'étudier l'influence de la localisation du gadolinium au sein d'une cellule en fonction de l'énergie de faisceau. L'influence de la forme du gadolinium a aussi pu être étudiée, notamment en comparant la forme homogène (proche de la condition expérimentale du produit de contraste) et la forme de nanoparticules. Différentes observables ont été étudiées pour chaque condition : la dose moyenne, la distribution de dose en deux dimension et les spectres d'électrons.

Dans le chapitre 4, nous sommes descendus à l'échelle nanométrique, afin de réaliser une étude plus précise des caractéristiques d'une nanoparticule sous irradiation. Deux grandeurs ont été étudiées : les spectres de photons et d'électrons secondaires produits et la dose déposée localement autour de la NP. Pour ces deux grandeurs, les dépendances en fonction de l'énergie du faisceau et de la taille des nanoparticules ont pu être déterminées. Tout au long du chapitre, nous avons comparé les résultats obtenus entre des nanoparticules d'or et des nanoparticules de gadolinium. À la fin du chapitre, nous avons cherché à comparer ce modèle local à des données expérimentales *in vitro* obtenues en présence cette fois de nanoparticules d'or.

A notre connaissance, aucune publication n'a fait mention d'une comparaison détaillée entre les nanoparticules de gadolinium et d'or dans une optique d'optimisation clinique pour la thérapie par photoactivation. La comparaison de la localisation du gadolinium à l'échelle cellulaire, avec une application concrète aux expériences constitue aussi une originalité de la thèse.

Chapitre 2

Matériels et méthodes

Sommaire

2.1 Bases physiques : interactions particules-matière	51
2.1.1 Effet radiobiologique : de l'interaction primaire à la mort cellulaire	52
2.1.2 Interactions des photons	53
2.1.3 Interactions des électrons	56
2.1.4 Relaxations atomiques	58
2.1.5 Grandeurs dosimétriques	60
2.2 Méthodes expérimentales	65
2.2.1 Caractéristiques des agents radiosensibilisants utilisés à base de gadolinium	65
2.2.2 Modèle cellulaire et internalisation des nanoparticules	66
2.2.3 Méthode de clonogénicité en présence de gadolinium	68
2.2.4 Expériences réalisées avec de l'or	73
2.2.5 Comparaisons statistiques	73
2.3 Les codes Monte Carlo	74
2.3.1 Introduction générale sur la méthode de Monte Carlo	74
2.3.2 Transport des photons	75
2.3.3 Transport des électrons	75
2.3.4 Les différents codes Monte Carlo utilisés dans le domaine médical	76
2.3.5 PENELOPE	78
2.3.6 Geant4	81
2.4 Bilan	85

2.1 Bases physiques : interactions particules-matière

Ce travail de thèse porte principalement sur des notions de radiothérapie, de dosimétrie et de radiobiologie. Il est donc important de rappeler les grandeurs et interactions primaires induites par les rayonnements ionisants avant de passer à

l'analyse des résultats dans le chapitre suivant. Seuls les principes relatifs aux électrons et aux photons seront détaillés dans ce chapitre car ce sont les rayonnements d'intérêt pour notre application.

2.1.1 Effet radiobiologique : de l'interaction primaire à la mort cellulaire

En traversant la matière, une particule ionisante, massive ou non, passe au voisinage d'électrons et de noyaux d'atomes avec lesquels elle est susceptible d'interagir. Le type d'interaction dépend à la fois de la nature de la particule, de son énergie et du milieu environnant. Dans le cas de matière biologique, l'énergie transférée physiquement à la matière va mener ensuite à une cascade de processus jusqu'à l'obtention de dommages biologiques (par exemple : mort cellulaire). Il est possible de distinguer trois grandes étapes dans cet enchaînement :

- L'étape *physique* :

Il s'agit de la toute première étape qui fait suite à l'irradiation et se réalise dans des temps très courts ($< 10^{-15}$ seconde). Elle correspond aux interactions physiques élémentaires des particules ionisantes (photons et électrons) avec les atomes et les molécules du milieu, les laissant dans un état ionisé ou excité, transférant ainsi leur énergie cinétique au milieu.

- L'étape *physico-chimique et chimique* :

Étape au cours de laquelle les entités chimiques sont créées et diffusées dans le milieu entre 10^{-15} et 10^{-6} seconde suivant l'irradiation. Dans un premier temps (inférieur à la picoseconde) les espèces ionisées par les interactions primaires se réorganisent rapidement pour former des produits radicalaires très réactifs, tels que les radicaux hydroxyle (OH^\bullet), hydrogène (H^\bullet) et les électrons solvatés, dits « électrons aqueux » (e_{aq}^-). La seconde étape, qui s'étend jusqu'à la microseconde, est celle de la diffusion et des réactions chimiques de ces espèces radicalaires pouvant causer d'autres dommages moléculaires.

- L'étape *biologique* :

Les réactions physiques et chimiques ont alors pu créer un certain nombre de lésions plus ou moins complexes aux biomolécules du milieu, telles que l'ADN, l'une des principales cibles de la cellule. Le processus biologique peut ensuite s'étendre sur plusieurs échelles de temps. Différents mécanismes de réparation sont enclenchés jusqu'à plusieurs heures après irradiation. Finalement, des lésions résiduelles graves peuvent entraîner la mort cellulaire, mais des erreurs peuvent aussi s'être glissées dans le cycle de réparation entraînant une mutation de la cellule. À ce stade, c'est à l'échelle des années que des complications peuvent éventuellement apparaître sous forme par exemple de cancer ou d'anomalie héréditaire.

Dans ce travail de modélisation nous nous sommes focalisés sur la description la plus détaillée possible de l'étape physique d'interaction des rayonnements avec la matière, à l'échelle de la cellule et des nanoparticules. L'objectif est ici de comprendre les phénomènes physiques à l'origine de la radiosensibilité cellulaire, observée expérimentalement en présence de nanoparticules lourdes.

2.1.2 Interactions des photons

Le sujet étant orienté sur la radiothérapie, le premier point important est la connaissance des interactions primaires induites par les photons incidents. Les photons interagissent pour l'essentiel avec les électrons atomiques du milieu traversé. Ces rayonnements sont considérés comme « indirectement ionisants » dans le sens où ils contribuent, dans un premier temps, à la mise en mouvement de particules chargées dites « directement ionisantes » (électrons, positrons). Ce sont ces dernières qui vont ensuite déposer la majorité de l'énergie dans la matière. Les quatre interactions principales des photons, l'absorption photoélectrique, la diffusion inélastique Compton, la diffusion élastique Rayleigh et la création de paire, sont décrites dans le paragraphe suivant.

2.1.2.1 Les différents processus collisionnels induits par les photons

- *L'interaction photoélectrique :*
il s'agit de l'absorption totale d'un photon par un atome, dont toute l'énergie est transférée à un électron des couches profondes laissant l'atome dans un état ionisé. L'énergie cinétique de l'électron est alors égale à celle du photon (E_γ) diminuée de l'énergie de liaison (W) de la couche à laquelle il a été arraché. Cette interaction est d'autant plus probable que le numéro atomique (Z) de l'élément est élevé et que l'énergie incidente est faible. La section efficace (cf. 2.1.5.2) est proportionnelle à $\frac{Z^3}{E_\gamma^3}$.
- *La diffusion Compton :*
cette interaction peut être vue comme une collision de « particules ». Le photon est diffusé de façon inélastique lors de son interaction avec un électron des couches périphériques d'un atome, dont l'énergie de liaison est très faible devant l'énergie du photon primaire (E_γ). De cette interaction résultent deux particules qui se partagent l'énergie cinétique disponible : le photon diffusé (E'_γ) d'un angle θ par rapport à la direction incidente et l'électron éjecté (E_{e^-}). La répartition des énergies est liée à l'angle θ selon la relation :

$$E'_\gamma = \frac{E_\gamma}{1 + \frac{(1 - \cos \theta)E_\gamma}{m_e c^2}}$$

ou $m_e c^2$ est l'énergie de masse de l'électron, égale à 511 keV. La probabilité d'interaction Compton ne dépend quasiment pas du matériau et décroît lentement

lorsque l'énergie augmente (section efficace proportionnelle à $\frac{1}{E_\gamma}$).

- *La diffusion Rayleigh :*

c'est un processus élastique au cours duquel l'onde électromagnétique primaire est absorbée par l'atome puis réémise avec la même énergie mais dans une direction différente. L'angle d'émission est aléatoire et l'atome reste dans le même état qu'avant l'interaction. Ce processus a lieu pour les faibles énergies de photon et sa probabilité d'occurrence est très inférieure à celle de l'effet photoélectrique ce qui explique qu'il soit souvent négligé. De plus il faut noter que la diffusion Rayleigh, puisqu'elle est élastique, contribue à l'atténuation du faisceau de photon mais pas à son absorption dans la matière.

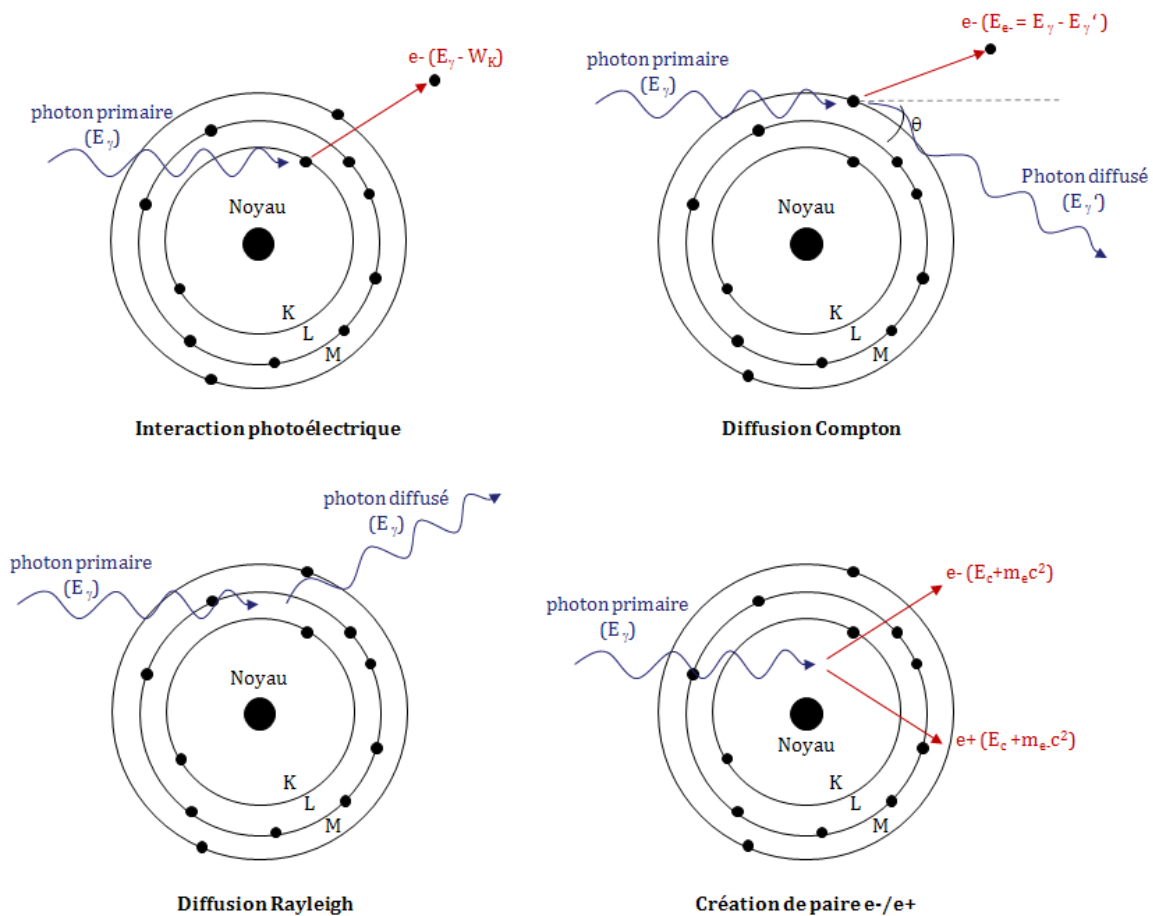


Figure 2.1: Schéma de principe des interactions photoélectrique, Compton, Rayleigh et de création de paire.

- *La création de paire :*

elle correspond à la création, ou « matérialisation », d'une paire particule/antiparticule qui peut avoir lieu lorsqu'un photon de haute énergie passe au voisinage du noyau de l'atome. Plus le numéro atomique du matériau est élevé

plus la probabilité de matérialisation est grande. Dans le domaine d'énergie qui concerne la radiothérapie, le photon peut se matérialiser en une paire électron/positon de masse (m_e) et d'énergie cinétique (E_c) égales. L'énergie minimale pour que cette réaction soit possible est donc de deux fois la masse d'un électron au repos, 1,022 MeV. La probabilité de matérialisation est cependant très faible à cette limite, elle augmente rapidement avec l'énergie du photon incident et ne devient significative par rapport aux autres interactions qu'au delà de 5 à 10 MeV.

Dans une proportion moindre par rapport à la création de paire, un photon de haute énergie (> 10 MeV) peut aussi être absorbé par le noyau et conduire à l'émission d'un proton ou d'un neutron et éventuellement à la formation d'un noyau radioactif. Ces réactions nucléaires, même si leur probabilité est faible, sont responsables d'une activation de composants de la tête de l'accélérateur médical dans le cas de traitements longs à haute énergie (faisceau de 18 MV). Ce phénomène est observé surtout pour la radiothérapie conformationnelle par modulation d'intensité (RCMI).

La Figure 2.1 regroupe ces quatre interactions principales dans un schéma simplifié.

2.1.2.2 Domaine de prédominance des interactions

Nous avons vu que la probabilité d'interaction d'un photon dans la matière dépend à la fois de la nature du matériau et de l'énergie du photon. La Figure 2.2 ci-dessous donne une idée des zones de prédominance des trois principales interactions en fonction de ces deux paramètres.

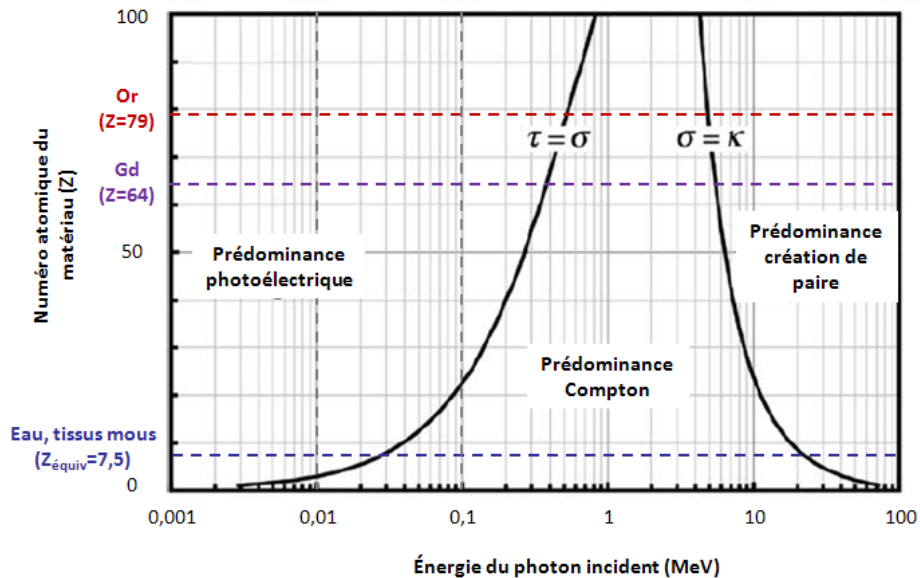


Figure 2.2: Importance relative des trois interactions principales des photons en fonction de l'énergie du photon incident et du numéro atomique du milieu [Abde 10].

Dans le cadre de la thérapie à base d'éléments lourds, nous nous plaçons à relativement basse énergie, de l'ordre de la dizaine à la centaine de keV. Dans ce domaine l'effet photoélectrique est globalement prédominant pour les éléments de Z élevés. C'est l'interaction primaire principalement visée pour cette thérapie où l'on cherche à augmenter l'effet différentiel entre la tumeur et les tissus environnants. Deux raisons à cela : (1) Cette interaction permet le transfert de toute l'énergie cinétique disponible à un électron qui va déposer son énergie relativement localement dans un périmètre limité par son parcours (cf. section 2.1.5.4). (2) L'absorption photoélectrique est plus probable pour les couches électroniques les plus liées ce qui entraîne dans sa suite une désexcitation atomique conséquente pour un atome lourd (cf. section 2.1.4). Cette part de l'énergie est finalement libérée sous forme de photons de fluorescence mais aussi d'électrons de basse énergie (électrons Auger). Ces derniers semblent jouer un rôle particulièrement important dans la localisation du dépôt d'énergie.

Au contraire, la diffusion Compton ne donne pas lieu à d'importantes relaxations atomiques car le photon interagit préférentiellement avec un électron périphérique peu lié de l'atome. Une grande part de l'énergie disponible est alors déposée à plus grande échelle par le photon diffusé. C'est l'interaction la plus probable dans l'eau et les tissus mous au delà de 30 keV.

La création de paire et la photoproduction nucléaire sortent du domaine d'énergie étudié dans cette thèse.

2.1.3 Interactions des électrons

Le faisceau primaire de photons permet la mise en mouvement d'un grand nombre d'électrons. Ceux-ci vont ensuite créer des dommages aux molécules biologiques en déposant localement l'énergie qui leur a été transférée. Le paragraphe suivant décrit les différents processus mis en jeu lorsque les électrons traversent la matière.

La perte d'énergie se fait essentiellement par interaction coulombienne avec les électrons atomiques mais aussi par diffusion sur le noyau. De la même manière que pour les photons, les interactions des électrons peuvent être inélastiques ou élastiques. Dans le premier cas, il y a un transfert d'énergie aux atomes du milieu et dans le deuxième, une simple diffusion angulaire (ou s'accompagnant d'une perte d'énergie extrêmement faible).

Le choix du type d'interaction qui a lieu peut être décrit en fonction d'un paramètre d'impact b défini comme la distance entre la trace de l'électron incident et le noyau de l'atome avec lequel il interagit (cf. Figure 2.3-A, [Podg 05]). Le rayon atomique est appelé a . Il s'agit bien sûr d'une représentation schématisée ayant pour but de simplifier la description des interactions des électrons. En réalité, la trajectoire de l'électron n'est pas rectiligne pour le domaine d'énergie qui nous intéresse et le paramètre d'impact b est donc plus difficile à définir.

Les différentes interactions sont détaillées ci-dessous, accompagnées d'un schéma

de principe Figure 2.3-B.

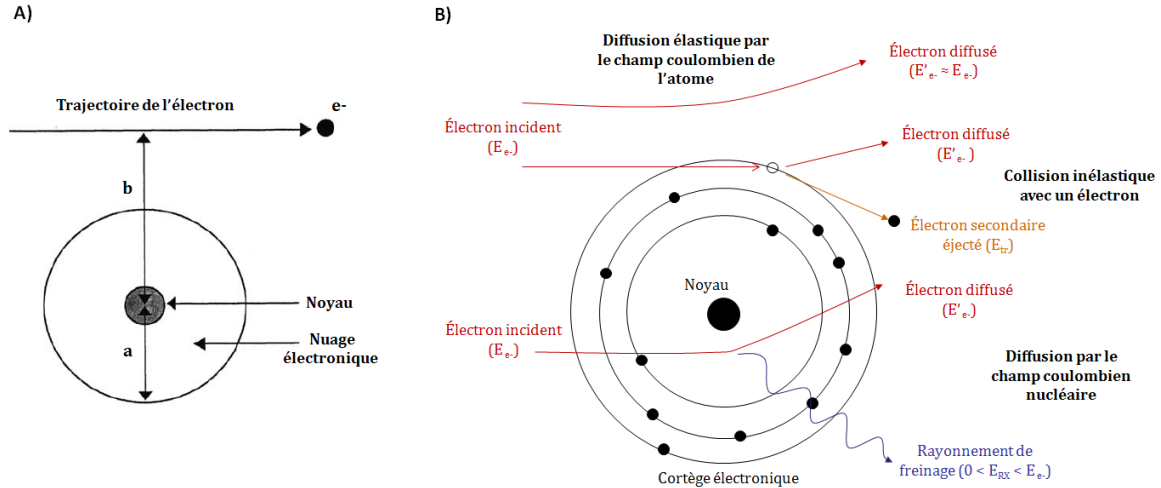


Figure 2.3: A : Schéma de principe de l'interaction d'un électron avec un atome de rayon a , décrite par un facteur d'impact b [Podg 05]. B : Détail du type d'interaction.

- Si $b \gg a$: l'électron interagit à distance avec le champ coulombien de l'atome, ne cédant que très peu d'énergie et subissant une légère déviation de sa trajectoire. Cette interaction peut être assimilée à une diffusion élastique, dont la probabilité est d'autant plus importante que l'énergie de l'électron incident est faible.
- Si $b \approx a$: l'électron incident est susceptible de faire une collision inélastique avec un électron du cortège d'une couche périphérique. L'électron est dévié de sa trajectoire et cède une part de son énergie à l'électron atomique, laissant l'atome dans un état excité ou ionisé selon la quantité d'énergie qui a été transférée.
- Si $b \ll a$: l'électron incident diffuse dans le champ coulombien du noyau en libérant de l'énergie de manière radiative avec l'émission d'un rayonnement X de freinage (*Bremsstrahlung*). L'énergie transférée est d'autant plus importante que le paramètre d'impact est faible et que la déviation de l'électron est importante. L'énergie du photon s'étend sur un spectre continu allant de zéro (dans le cas d'une diffusion élastique dans le champ nucléaire) jusqu'à une valeur maximale égale à l'énergie cinétique de l'électron incident. Les interactions nucléaires sont proportionnelles au Z^2 du matériau traversé.

Les interactions avec les électrons du cortège sont prépondérantes pour des énergies cinétiques incidentes inférieures à quelques MeV. Au delà, ce sont les diffusions nucléaires qui deviennent prépondérantes. La production d'électrons de basse et moyenne énergie ainsi que leurs dépôts d'énergie à l'échelle cellulaire seront un point d'étude particulièrement important dans cette thèse.

2.1.4 Relaxations atomiques

Nous avons vu précédemment que les photons et les électrons interagissaient de différentes manières dans la matière, certaines interactions pouvant donner lieu à un état ionisé ou excité des atomes. Le retour à l'état fondamental de ces atomes se fait par relaxation atomique, phénomène entraînant une libération d'énergie sous la forme de particules secondaires. Les processus de relaxation sont décrits dans le paragraphe ci-dessous.

2.1.4.1 Processus de relaxation

Les atomes peuvent se désexciter de manière radiative avec émission d'un rayonnement de fluorescence X ou de manière non-radiative avec éjection d'un électron des couches supérieures moins liées. Une explication schématisée de ces processus est donnée Figure 2.4.

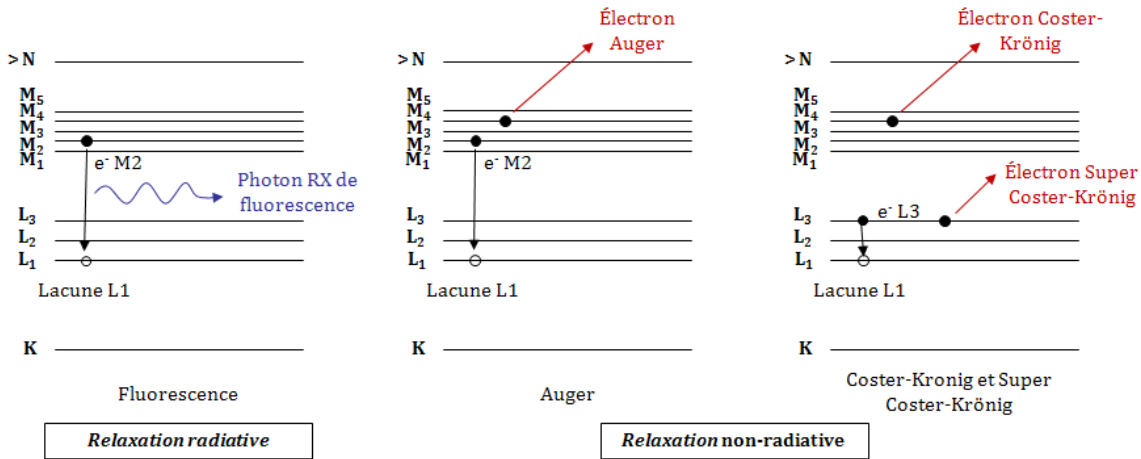


Figure 2.4: Exemples de relaxations radiatives et non-radiatives d'un atome suite à une ionisation en sous-couche L_1 .

Considérons l'ionisation d'un atome lourd en sous-couche L_1 , créée suite à une interaction photoélectrique par exemple.

Dans le premier cas représenté sur le schéma, la lacune est remplie par un électron de la sous-couche M_2 et la différence des énergies de liaison est ici libérée sous forme d'un rayonnement de fluorescence. Ce rayonnement est appelé aussi rayonnement caractéristique car le spectre de raies observé lorsque l'on considère un grand nombre de désexcitations est propre à chaque élément.

Les deux autres exemples du schéma montrent le cas de transitions non-radiatives où l'énergie de transition est absorbée par un électron d'une couche supérieure. Cet électron est alors éjecté de l'atome et appelé électron Auger [Auge 23].

Des cas particuliers d'électrons Auger sont considérés lorsque la transition est faite entre deux sous-couches d'une même couche atomique (ici de L_3 vers L_1). Si l'énergie

de la transition est absorbée par un électron d'une couche atomique différente (ex. M), l'électron est appelé Coster-Krönig (CK), si l'électron éjecté appartient à la même couche que celle de la transition (ex. L) il est appelé Super Coster-Krönig [Cost 35].

La nomenclature utilisée pour nommer les raies de fluorescence en fonction de la transition atomique mise en jeu peut être trouvée en annexe A.1.5.

2.1.4.2 Probabilités de relaxation

Le choix de la transition suit des probabilités qui dépendent de la couche ionisée et de l'élément. La Figure 2.5 représente les taux de production relatifs de fluorescence (ω) et d'émission Auger (a), en fonction du numéro atomique de l'atome ionisé.

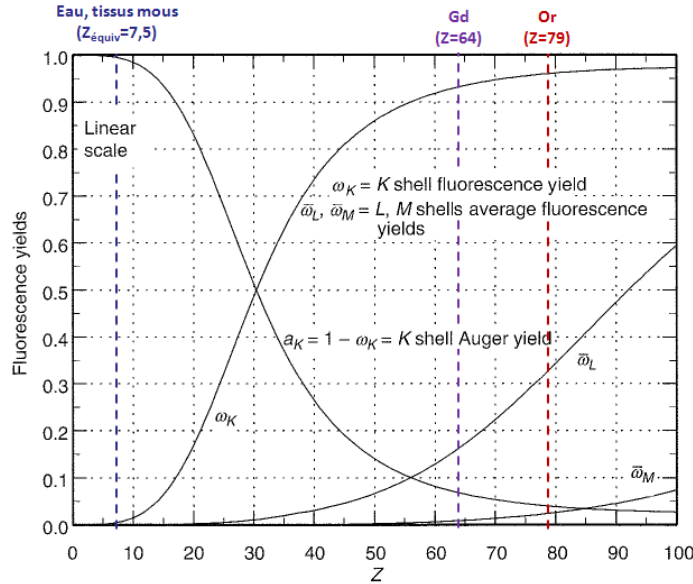


Figure 2.5: Relaxations relatives radiatives (ω) et non-radiatives (a) pour les couches profondes (K, L et M) en fonction du numéro atomique (Z) de l'atome [Carr 06].

Nous pouvons remarquer que le taux de production de rayonnement de fluorescence augmente avec le numéro atomique de l'élément, devenant le processus prépondérant au delà de $Z = 30$ (Zn) dans le cas d'une lacune en couche K (96 % pour l'or par exemple). Les processus non-radiatifs dominent quant à eux pour des lacunes en couches supérieures (L, M), les processus CK n'étant pas visibles sur ce diagramme. Pour des atomes lourds composés de plusieurs couches et sous-couches atomiques, il faut cependant considérer qu'un grand nombre de relaxations sont nécessaires pour un retour de l'atome à l'équilibre suite à une ionisation K. Ce phénomène de désexcitation en cascade, impliquant les couches supérieures moins liées, mène *in fine* à la libération d'un grand nombre d'électrons de basse énergie, même si la première relaxation est principalement radiative. Ces cascades ont un rôle particulièrement important dans le cadre de la thérapie par photoactivation d'éléments lourds.

Les caractéristiques physiques (propriétés massiques, énergies de liaison, taux de relaxation) des éléments d'intérêt composant la matière organique et les nanoparticules utilisées, peuvent être trouvés en annexe [A.1](#).

2.1.5 Grandeurs dosimétriques

Différentes grandeurs sont utilisées en radiothérapie pour caractériser les rayonnements ionisants et quantifier leurs effets sur la matière biologique. Seront introduites ici les notions fondamentales de dose absorbée, de section efficace, de coefficient d'atténuation et d'absorption massique pour les faisceaux de photons et de pouvoir d'arrêt pour les particules chargées, la notion de transfert d'énergie linéique (TEL) et enfin celle d'efficacité biologique relative (EBR) [[ICRU 98](#), [Tubi 90](#)].

2.1.5.1 Dose absorbée

La dose absorbée est une grandeur intensive qui permet de quantifier les effets sur la matière biologique dus aux rayonnements ionisants. Elle est définie comme l'énergie moyenne $d\bar{E}$ déposée dans un volume de matière irradiée divisée par la masse dm de ce volume :

$$D = \frac{d\bar{E}}{dm} \text{ (Gy)}$$

La dose s'exprime en Gray (Gy) et correspond à un Joule par kilogramme (J/kg).

Dans ce travail nous allons parler plus souvent en terme d'augmentation de dose en présence d'un élément lourd (appelé DEF pour *dose enhancement factor*) plutôt que de dose. Nous nous intéressons en effet à un apport supplémentaire par rapport à une dose de référence. Ce facteur peut être défini de manière générale comme la dose absorbée dans un volume en présence d'un élément lourd par rapport à la dose absorbée de référence dans ce même volume (par exemple l'eau ou le tissu biologique) :

$$DEF = \frac{D_{\text{élément lourd}}}{D_{\text{réf}}}.$$

2.1.5.2 Section efficace

Nous avons vu précédemment qu'une particule projectile subit une succession d'interactions, induisant dès lors d'importants transferts d'énergie vers les atomes du milieu. L'apparition de ces phénomènes est caractérisée par une grandeur appelée la section efficace.

La notion de section efficace renvoie à une surface et est reliée de manière générale à la probabilité d'interaction d'une particule projectile sur une cible pour une interaction donnée. Dans l'hypothèse première d'un projectile ponctuel et de cibles assimilées à des sphères dures réparties sur une surface S (volume suffisamment fin pour éviter la superposition des sphères), la probabilité d'une collision avec l'une des sphères apparaît comme le rapport de la surface occupée par l'ensemble de ces sphères, appelée σ , sur la surface totale. Ce concept peut s'étendre au cas physique réel où les cibles

sont les atomes du milieu traversé, la section efficace pouvant alors être considérée comme une surface fictive prenant en compte la nature des atomes cibles, du projectile et de l'interaction considérée. L'unité associée à la section efficace est le cm^2 mais s'exprime plus généralement en barn (b), unité adaptée à l'échelle des atomes, un barn étant égal à 10^{-24} cm^2 .

Des sections efficaces peuvent être définies pour chaque type d'interaction (cf. section 2.1.2 et 2.1.3). Le transport des particules par la méthode de Monte Carlo est fait à partir de tirages pseudo-aléatoires sur ces grandeurs (cf. section 2.3.1).

2.1.5.3 Coefficients d'atténuation et d'absorption massique

Deux grandeurs sont utilisées pour caractériser l'atténuation d'un faisceau de photons qui traverse une épaisseur de matière, de masse volumique ρ . Ils s'agit des coefficients d'atténuation massique ($\frac{\mu}{\rho}$) et d'absorption massique ($\frac{\mu_{en}}{\rho}$). Ils sont exprimés en cm^2/g , μ étant égal à $n\sigma$ (nombre de cibles (n) de section efficace individuelle σ). Les coefficients d'atténuation massique renseignent sur la probabilité d'occurrence des différents types d'interactions des photons alors que celui d'absorption massique renseigne sur la fraction d'énergie déposée localement, toutes interactions confondues. Ce dernier mène au calcul de la dose absorbée. Une comparaison des coefficients d'atténuation et d'absorption massique pour l'or, le gadolinium et l'eau est reportée sur la Figure 2.6 [Hubb 96].

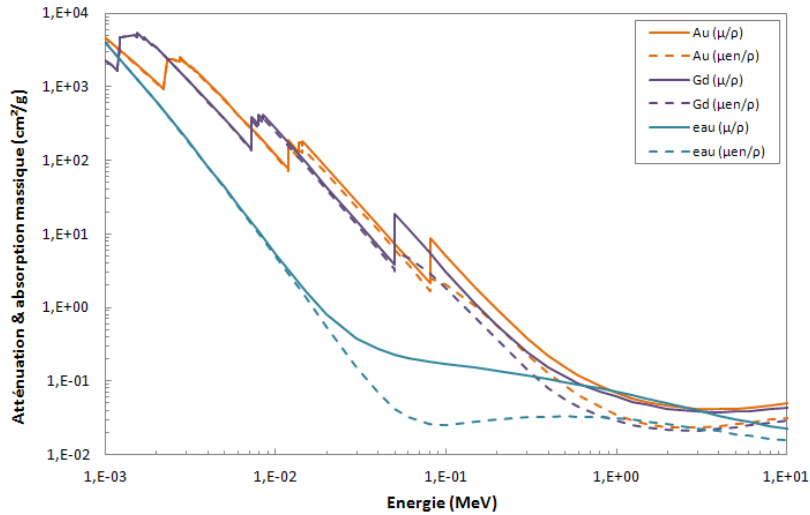


Figure 2.6: Coefficients d'atténuation (traits pleins) et d'absorption (tirets) massique, en cm^2/g , photons de 1 keV à 10 MeV, pour l'or, le gadolinium et l'eau (bases de données du NIST [Hubb 96]).

Sur cette figure, nous voyons que l'effet différentiel entre les éléments lourds et l'eau est maximal pour les énergies de 10 à 100 keV (cf. aussi la Figure 1). Cela montre l'intérêt d'utiliser un rayonnement de basse énergie avec l'adjonction d'éléments lourds

afin de tirer parti de l'augmentation de la probabilité d'interaction qui a lieu dans ce cas. Au delà d'une certaine énergie, et de façon plus marquée dans l'eau, une différence peut être observée entre l'atténuation et l'absorption. Dans cette zone en effet, la probabilité de diffusion Compton devient plus importante. Or, pour cette interaction, une partie de l'énergie transférée aux particules secondaires n'est pas déposée localement et ne contribue donc pas à l'absorption massique locale. Nous pouvons aussi remarquer qu'entre 1 et 3 MeV le $\frac{\mu_{en}}{\rho}$ de l'eau est légèrement plus élevé que celui des éléments de Z élevé. La thérapie par photoactivation ne devrait donc théoriquement pas être efficace pour ces énergies de faisceau.

2.1.5.4 Parcours des électrons et pouvoir d'arrêt

Lors du passage d'un électron dans la matière, les collisions élastiques et inélastiques multiples qui ont lieu ont pour conséquence de dévier sa trajectoire, lui donnant une allure dite en forme de « ligne brisée ». La Figure 2.7-A est un exemple de traces d'électrons de 10 keV dans un cube d'eau de 2 μm de côté, dont la projection en deux dimensions met clairement en évidence la déviation importante que subissent ces particules lors des nombreuses collisions avec les molécules d'eau. La distance parcourue par l'électron jusqu'à son arrêt dans le matériau est d'autant plus faible que son énergie est faible et que le numéro atomique du matériau est élevé. Le parcours des électrons dans l'eau pour les énergies qui nous intéressent dans ce travail (de 100 eV à 100 keV) est tracé sur la Figure 2.7-B.

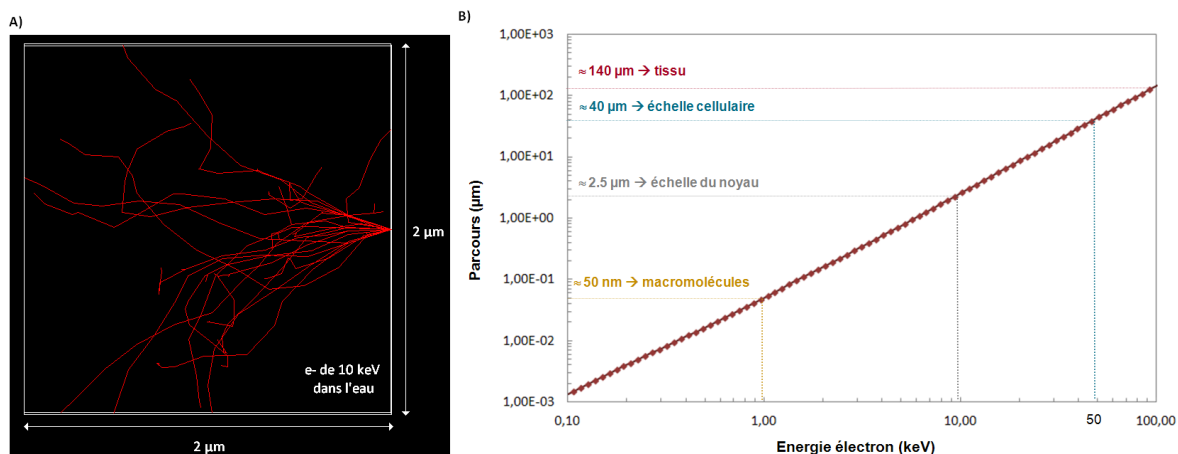


Figure 2.7: A : projection en 2D de traces d'électrons de 10 keV dans l'eau. B : parcours moyen d'un électron dans l'eau en fonction de son énergie [Salv 06].

Il est tiré des tables de sections efficaces électroniques intégrées dans le code PENELOPE [Salv 06] et correspond au calcul fait selon une approximation de ralentissement continu, connu en anglais sous le nom de *CSDA range* (pour *continuous slowing down approximation*). Cette approximation fait l'hypothèse que la particule perd son énergie de manière continue, à un taux égal au pouvoir d'arrêt total à chaque point de la trace

de l'électron (cf. paragraphe suivant pour la définition du pouvoir d'arrêt). Les fluctuations de la perte d'énergie sont donc négligées. Le parcours R_{CSDA} est défini de la manière suivante [Berg 64] :

$$R_{CSDA} = \int_0^{E_0} \frac{dE}{S_{tot}(E)} \text{ (cm}^2/\text{g)}$$

avec E_0 égale à l'énergie cinétique initiale de l'électron et $S_{tot}(E)$, le pouvoir d'arrêt massique total de l'électron en fonction de son énergie cinétique.

La dépendance du parcours des électrons en fonction de leur énergie cinétique permet de se faire une idée des échelles mises en jeu et des cibles biologiques pouvant être atteintes. Par exemple, des électrons de quelques dizaines de keV créés dans une cellule peuvent atteindre potentiellement les cellules voisines, alors que ceux de moins de 10 keV vont tous déposer leur énergie à une échelle sub-cellulaire (quelques micromètres). Ceux de plus basse énergie encore (inférieure au keV) ne parcourront pas plus de quelques dizaines de nanomètres. De tels électrons créés dans le cytoplasme d'une cellule, par exemple, ne pourraient pas atteindre le noyau cellulaire et causer des dommages à l'ADN. Cependant, ils seraient potentiellement responsables de dommages importants aux composites du cytoplasme à cause de la forte densité d'énergie déposée sur une très courte distance. Ces électrons sont dits à haut transfert d'énergie linéique (cf. section 2.1.5.5) et sont supposés avoir un plus grand impact biologique [Nikj 10].

La grandeur utilisée pour décrire la perte d'énergie des particules chargées lors de leur transport dans la matière est le pouvoir d'arrêt massique, noté S (utilisé en Monte Carlo par exemple). La Figure 2.8 représente le pouvoir d'arrêt massique des électrons de 10 keV à 10 MeV dans l'eau [Berg 05].

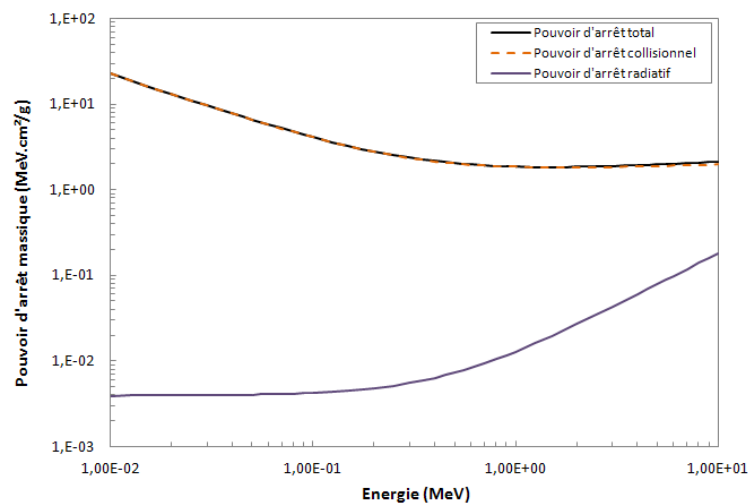


Figure 2.8: Pouvoir d'arrêt collisionnel et radiatif des électrons dans l'eau, de 10 keV à 10 MeV (bases de données du NIST [Berg 05]).

Cette grandeur est tirée des sections efficaces d'interaction. Elle correspond à la perte d'énergie dE par unité de longueur dx et ramenée à la densité du matériau ρ :

$$\left(\frac{S}{\rho}\right)_{tot} = \frac{1}{\rho} \cdot \frac{dE}{dx} = \left(\frac{S}{\rho}\right)_{coll} + \left(\frac{S}{\rho}\right)_{rad} \quad (MeV.cm^2/g).$$

Le pouvoir d'arrêt total peut se décomposer en un pouvoir d'arrêt « collisionnel » dû aux interactions avec les électrons atomiques (décrit par la formule de Bethe et Bloch, cf. annexe A.2) et un pouvoir d'arrêt « radiatif » dû aux interactions avec les noyaux d'atomes par rayonnement de freinage.

Pour les énergies étudiées dans ce travail la perte d'énergie est exclusivement collisionnelle.

2.1.5.5 Considérations radiobiologiques

Nous pouvons remarquer sur la Figure 2.8 que la perte d'énergie des électrons est d'autant plus importante que l'énergie cinétique est faible, pour les énergies inférieures au MeV. Cet aspect a une conséquence importante sur le plan radiobiologique, mettant en jeu deux autres grandeurs : le transfert d'énergie linéique (TEL) et l'efficacité biologique relative (EBR).

Le TEL est défini, pour une énergie donnée, comme l'énergie localement absorbée dans la matière sur une distance dl de la trajectoire d'une particule ionisante [ICRU 98]. Cette définition est identique au pouvoir d'arrêt mais se rapporte plutôt à une densité d'ionisation locale et s'utilise donc à une échelle spatiale plus basse. Elle s'exprime généralement en keV/ μ m. Les ions et les neutrons sont considérés comme des particules à haut TEL, c'est à dire ionisant la matière de façon dense spatialement, contrairement aux photons considérés comme étant de bas TEL. La limite couramment admise se situe à 10 keV/ μ m pour les particules de haut TEL. Par exemple, des photons gamma du ^{60}Co ont un TEL de 0,3 keV/ μ m alors que des électrons de 10 et 1 keV ont respectivement un TEL de 2,3 et 12,3 keV/ μ m. Des électrons inférieurs à 1 keV peuvent être considérés comme des particules de haut TEL.

La grandeur qui permet de quantifier l'importance de l'effet biologique en fonction de la qualité d'un rayonnement est l'EBR. Elle est définie comme le rapport de la dose déposée par un rayonnement standard (photons gamma du ^{60}Co) sur celle du rayonnement étudié pour obtenir le même effet biologique (par exemple un taux de CDB ou un taux de mort cellulaire). L'EBR varie en fonction du type cellulaire, de la dose, du débit de dose et du fractionnement. Elle peut atteindre des valeurs maximales allant de 3 à 8 (selon le taux de survie cellulaire choisi) pour un rayonnement ayant un TEL de l'ordre de 200 keV/ μ m (ions carbone au niveau du pic de Bragg par exemple).

La publication de Nikjoo et Lindborg [Nikj 10] fait une revue de tous les travaux publiés concernant le calcul et la mesure expérimentale d'EBR pour des électrons et photons de basse énergie. Par exemple, des calculs de cassures d'ADN induites par des électrons de 100 eV à 100 keV ont été faits à partir de simulations

numériques, trouvant une EBR supérieure à 1 pour les électrons d'énergie inférieure à 4,5 keV [Nikj 02, Nikj 10].

2.2 Méthodes expérimentales

Au cours de cette thèse, des expériences ont été menées sur la ligne bio-médicale de l'ESRF avec Florence Taupin et Hélène Elleaume de l'équipe INSERM (unité 836) et Jean-Luc Ravanat du CEA de Grenoble. Les expériences ont porté sur l'étude de la radiosensibilisation d'un modèle de cellules cancéreuses de rats en présence d'or, puis de gadolinium. La sensibilité aux rayonnements X a été faite en utilisant ces deux éléments sous forme de nanoparticules (AuNP et GdNP) ou sous forme moléculaire. Dans ce dernier cas, l'élément lourd est considéré comme uniformément réparti. La méthode suivie pour la mise en œuvre et l'analyse du test de clonogénicité est décrite au paragraphe 2.2.3.

D'autres types d'analyses ont été faites pour mesurer l'effet dû aux nanoparticules. Par exemple, des études *in vivo* ont été réalisées pour estimer la survie de rats porteurs de gliomes, traités avec une combinaison de nanoparticules et d'irradiation RX. D'autres études *in vitro* ont porté sur la quantification de CDB par marquage H₂AX, la mesure du taux de production de radicaux en solution ou encore l'étude du cycle cellulaire. Ces dernières analyses ne seront pas décrites dans ce manuscrit car elles n'ont pas été utilisées pour la comparaison avec la simulation.

La première campagne de mesures ESRF a été réalisée en 2010 pour étudier l'or comme agent radiosensibilisant. Les trois campagnes suivantes ont été réalisées avec du gadolinium. Les détails des expériences seront principalement donnés pour le gadolinium.

2.2.1 Caractéristiques des agents radiosensibilisants utilisés à base de gadolinium

Le gadolinium a été utilisé sous forme de nanoparticules et de produit de contraste afin d'évaluer l'impact de la forme de l'élément lourd sur la radiosensibilité cellulaire.

Les nanoparticules sont synthétisées par l'équipe d'Olivier Tillement (Laboratoire de Physico-Chimie des Matériaux Luminescents, à Lyon), associée avec la start-up Nano-H® [Nanao]. Le protocole de synthèse est décrit par Lux *et al.* [Lux 11] dans le cas de nanoparticules très semblables à celles que nous avons utilisées dans les expériences.

Celles qui nous intéressent ici sont composées de gadolinium ($Z=64$) et de silicium ($Z=14$) avec un rapport atomique Si/Gd = 2. Le gadolinium est chélaté avec une molécule appelée DTPA (acide diéthylène triamine penta acétique) permettant de former un complexe stable et inerte dans le milieu biologique, le gadolinium étant toxique s'il n'est pas complexé. Le gadolinium présente le double avantage d'avoir un numéro atomique relativement élevé et des propriétés paramagnétiques permettant de visualiser les nanoparticules à la fois en imagerie RX et en imagerie par résonance magnétique

(IRM). Les nanoparticules sont aussi marquées avec une molécule fluorescente, le FITC (isothiocyanate de fluorescéine), dont les longueurs d'ondes d'excitation et d'émission sont respectivement à 495 nm et 521 nm. Ainsi, elles peuvent aussi être visualisées en microscopie, ce qui en fait un agent particulièrement intéressant pour le diagnostic (outre son utilisation thérapeutique, comme cela avait été discuté précédemment, cf. Figure 2.6)).

Le diamètre hydrodynamique moyen de ces NP est de l'ordre de 2,5 nm (taille de la particule et épaisseur de la couche de solvation). Ces GdNP ont la propriété de pouvoir entrer à l'intérieur des cellule : leur internalisation dans les cellules F98 sera discuté dans le paragraphe 2.2.2.

Le Magnevist® (gadopentétate de diméglumine) a été ensuite utilisé afin d'étudier l'effet d'une répartition homogène du gadolinium. Il s'agit d'un produit de contraste utilisé à titre diagnostique en IRM qui s'injecte *in vivo* par voie intraveineuse. La molécule est stable et ne présente pas de toxicité pour le milieu biologique. Contrairement aux nanoparticules, les produits de contraste restent à l'extérieur des cellules.

Pour une concentration macroscopique égale en gadolinium, la répartition nano et microscopique est alors très différente entre ces deux agents : le Magnevist® tend à répartir de façon homogène le gadolinium dans le milieu interstitiel autour des cellules tandis que les nanoparticules concentrent les atomes en clusters et permettent une localisation intra-cellulaire après incubation. La réponse cellulaire lors de l'irradiation des agents peut alors être potentiellement très différente.

2.2.2 Modèle cellulaire et internalisation des nanoparticules

Le modèle cellulaire utilisé est le F98, un modèle de glioblastomes de rats extrêmement radiorésistant. Il a été montré que le comportement d'une tumeur injectée à base de cellules F98 chez le rat présentait de nombreuses similitudes avec le comportement d'un gliome de haut grade humain [Math 07], ce qui en fait un bon modèle pour l'étude de ce type de cancer. L'équipe INSERM de la ligne médicale de l'ESRF étudie ces cellules depuis de nombreuses années (*in vitro* et sur modèle animal). Les cellules F98 sont adhérentes et se développent par monocouche sur des plaques lorsqu'elles sont mises en culture, c'est à dire placées dans un incubateur humide à 37°C et baignant dans du milieu « complet ». Ce dernier est constitué de milieu de culture DMEM (pour *Dulbecco's Modified Eagle Medium*) auquel est ajouté 1 % d'antibiotiques PS (*Penicillin-Streptomycin*), afin d'éviter les contaminations bactériennes, et 10 % de serum de veau foetal (SVF) apportant les protéines nécessaires à la prolifération des cellules.

L'internalisation des GdNP dans les cellules dépend de nombreux paramètres, tels que la taille, la forme et la chimie de surface des nanoparticules, la concentration en NP et le temps d'incubation avec les cellules (cf. paragraphe 1.3.1.2). L'endocytose semble être le mécanisme le plus courant pour l'intégration de nanoparticules [Cant 12].

Elle consiste en une déformation de la membrane plasmique, ce qui permet une encapsulation des particules en surface menant à l'internalisation sous forme d'une vésicule.

La quantité de GdNP intégrées par cellule a été mesurée avec un spectromètre de masse (ICP-MS) et leur distribution au sein de la cellule a été visualisée avec un microscope à fluorescence. Ces mesures ont été réalisées par Florence Taupin et Mélanie Flaender à l'institut de biologie et de pathologie du CHU de Grenoble pour les mesures ICP-MS et à l'Institut Albert Bonniot de Grenoble (IAB).

Le résultat de la mesure par ICP-MS a montré une augmentation de la concentration en gadolinium par cellule avec le temps d'incubation, jusqu'à un maximum obtenu de $0,61 \pm 0,06$ mg/ml après 5 h d'incubation considérant un volume moyen cellulaire de $1000 \mu m^3$. L'incubation signifie que le milieu de culture est remplacé à un moment donné par du milieu contenant des nanoparticules, la solution ayant dans notre cas une concentration en gadolinium de 2,1 mg/ml. Les cellules sont alors remplacées dans l'incubateur pendant la durée souhaitée, ici pendant 5 h, puis rincées au PBS (pour *Phosphate-Buffered Saline*) et comptées afin de préparer la mesure au spectromètre. La concentration intra-cellulaire de $0,61 \pm 0,06$ mg/ml mesurée après 5 h d'incubation sera celle utilisée pour la simulation.

Des images ont ensuite été réalisées en microscopie à fluorescence pour étudier la distribution des GdNP à l'intérieur des cellules F98 pour différents temps d'incubation (10 minutes, 30 minutes, 1h, 2h et 5h). Les cellules sont fixées sur une plaque après incubation et rinçage puis marquées avec une molécule fluorescente qui se fixe sur l'ADN cellulaire, le DAPI (4',6'-diamidino-2-phénylindole). L'image correspondant à 5 h d'incubation avec les GdNP se trouve en Figure 2.2.2-A.

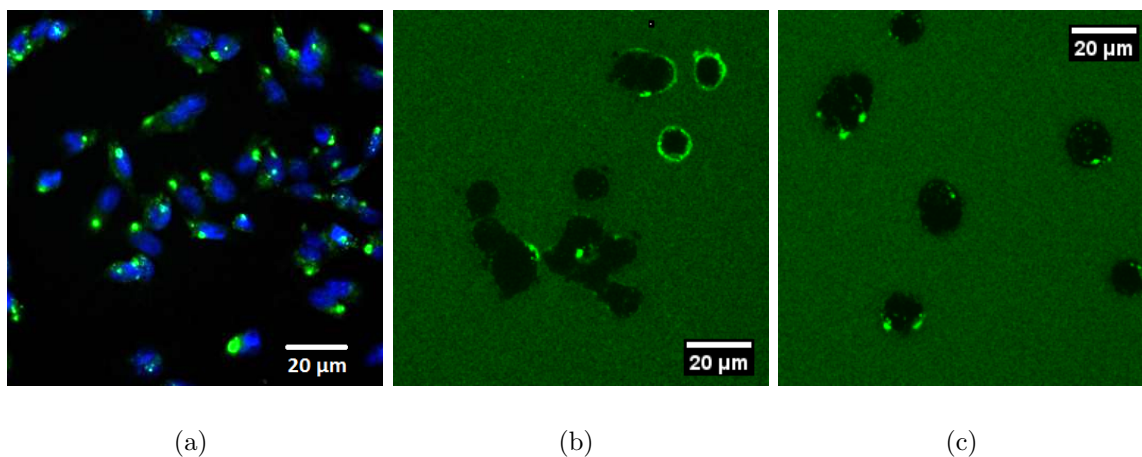


Figure 2.9: (a) : cellules F98 imagées par microscopie à fluorescence (grossissement 40) après 5 h d'incubation avec les GdNP. Les nanoparticules marquées par du FITC apparaissent en vert et les noyaux marqués au DAPI apparaissent en bleu. (b) et (c) : images confocales des GdNP après 2 h et 5 h d'incubation respectivement (grossissement 40).

Cette image montre qu’après 5 h d’incubation, presque toutes les cellules contiennent des nanoparticules qui semblent s’agglomérer en paquets. Les images n’étant pas assez précises pour pouvoir dire où sont situées exactement les nanoparticules, d’autres images ont été réalisées plus tard sur un microscope confocal permettant une meilleure résolution. Les images obtenues avec des temps d’incubation de 2 h et 5 h se trouvent respectivement en Figure 2.2.2-B et C. L’accumulation en agrégats des nanoparticules se confirme mais cette accumulation semble se faire sur la membrane cellulaire et non à l’intérieur du cytoplasme.

D’autres images reconstruites en trois dimensions montrent aussi clairement le recouvrement membranaire par ces nanoparticules de gadolinium. Ces dernières images ayant été réalisées très récemment, la majorité des simulations faites au cours de la thèse pour représenter l’incubation cellulaire ont été réalisées en supposant le gadolinium à l’intérieur du cytoplasme mais une comparaison a néanmoins été faite pour évaluer l’influence de différentes localisations intra-cellulaires.

La toxicité intrinsèque liée aux GdNP sur les F98 a aussi été mesurée afin de s’assurer que l’effet biologique obtenu après irradiation est bien dû à une combinaison de l’agent et de l’irradiation et non pas seulement à l’agent, comme cela peut être le cas avec des agents de chimiothérapie. Pour cela la mesure de la survie cellulaire après incubation avec les GdNP a été déterminée à l’aide d’un test clonogénique (cf. section 2.2.3). Quatre concentrations en gadolinium de la solution d’incubation ont été testées (0, 0.53, 1.05 et 2.1 mg/ml) ainsi que trois temps d’incubation (1 h, 6 h et 24 h d’incubation). Les résultats ont montré une toxicité significative seulement pour la condition la plus extrême, soit 24 h d’incubation avec la solution de concentration 2.1 mg Gd/ml, pour laquelle $23 \pm 3\%$ des cellules ont survécu par rapport à la survie des cellules de contrôle (non incubées avec les GdNP) de $78 \pm 8\%$. Toutes les autres conditions n’ont pas montré de toxicité significative.

Pour tout le reste des expériences de survie cellulaire, la combinaison de 5 h d’incubation avec une concentration de 2.1 mg/ml a été utilisée. Il s’agit du meilleur compromis entre l’absence de toxicité et la plus grande quantité de nanoparticules internalisées dans les cellules.

2.2.3 Méthode de clonogénicité en présence de gadolinium

Afin d’étudier la radiosensibilité des cellules F98 en présence de gadolinium, nous avons réalisé des mesures de la survie cellulaire par test clonogénique. Ce type de test est très répandu dans les études de cancérologie pour étudier l’efficacité d’un agent spécifique ou d’une irradiation (dans notre cas, la combinaison des deux) sur la capacité de prolifération ou de survie de cellules cancéreuses. Cette technique permet d’obtenir des résultats précis et directement représentatifs pour l’étude d’un effet biologique dû à un agent dans le cas d’expériences *in vitro*. Elle est cependant très lourde en temps de manipulation et en matériel utilisé.

2.2.3.1 Test clonogénique et survie cellulaire

Le test clonogénique consiste à appliquer un traitement à différents échantillons cellulaire, dont un de contrôle auquel aucun traitement n'est appliqué mais subissant les mêmes étapes expérimentales. Les différents échantillons sont ensuite ensemencés dans des boîtes de petri et laissés en croissance dans un incubateur pendant un certain nombre de jours. Chaque cellule qui a survécu forme une colonie, dont le nombre est déterminé par comptage après fixation et coloration des cellules. Une cellule est considérée comme viable si elle a donné naissance à une colonie de plus de 50 cellules. La survie cellulaire brute pour une condition donnée est calculée par le rapport entre le nombre de colonies comptées et le nombre de cellules initialement ensemencées. Le taux de survie des cellules normalisé par rapport à la survie brute des cellules de contrôle peut ensuite être observé graphiquement en échelle semi-logarithmique en fonction du paramètre étudié, généralement la dose administrée pour une étude de radiosensibilisation, cette représentation graphique est appelée *courbe de survie cellulaire*.

La forme de la survie cellulaire peut être ajustée par un modèle mathématique, appelé modèle *linéaire-quadratique* ou LQ. La survie cellulaire est exprimée en fonction de la dose d'irradiation D et deux paramètres, α et β , selon la relation suivante :

$$S = e^{-(\alpha D + \beta D^2)} .$$

Le paramètre α correspond à la pente de la courbe à l'origine et dépend de la probabilité d'avoir un événement directement létal. Le paramètre β correspond à la courbure de la courbe de survie et à l'accumulation de lésions sublétales (petites lésions dont l'accumulation conduit à la mort cellulaire au delà d'un certain nombre). Ainsi l'allure de ces courbes vont être très différentes pour des rayonnements de TEL différents, comme cela est illustré sur la Figure 2.10 [Kass 08].

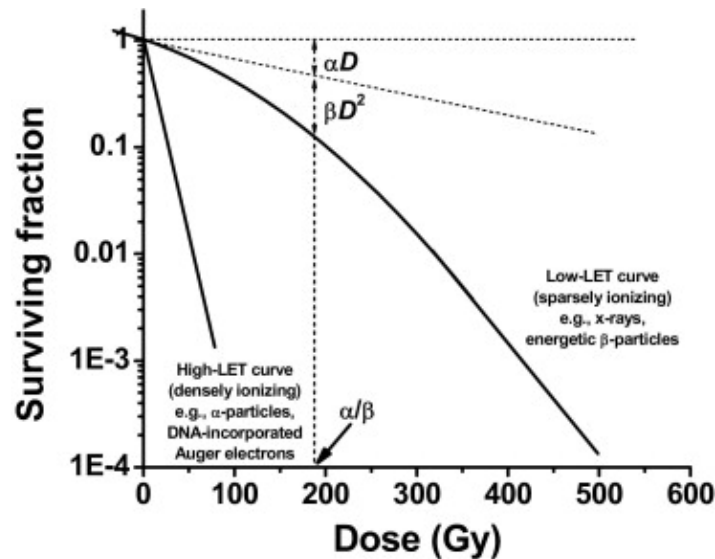


Figure 2.10: Exemple de courbes de survie cellulaire dans l'un cas d'un rayonnement de haut TEL et de bas TEL [Kass 08].

Dans le cas d'un rayonnement de haut TEL, chaque particule traversant une cellule est susceptible de créer un événement létal, de cette manière la composante β est presque nulle et la pente à l'origine importante. Alors que dans le cas de rayonnement de bas TEL, comme pour les photons, de multiples événements sub-létaux vont mener à la mort cellulaire. La courbe dans ce cas est caractérisée par une courbure importante et une pente à l'origine faible. Le rapport des paramètres $\frac{\alpha}{\beta}$ est alors un indicateur de la toxicité d'un rayonnement ou d'un traitement.

Le paramètre souvent utilisé pour quantifier l'efficacité d'un traitement, par rapport à un traitement de contrôle, est le rapport des doses nécessaires pour obtenir un même taux de survie, appelé *SER* pour *sensitizer enhancement ratio*. Le taux de survie généralement utilisé comme indicateur de la réponse au traitement est de 10 %, dans ce cas le facteur s'exprime comme :

$$SER_{10\%} = \frac{D_{\text{contrôle},10\%}}{D_{\text{traitement},10\%}}$$

$D_{\text{contrôle},10\%}$ et $D_{\text{traitement},10\%}$ étant les doses nécessaires pour obtenir 10 % de survie cellulaire, respectivement dans le cas d'un traitement de contrôle (par exemple une irradiation seule) et le cas du traitement à étudier (par exemple une irradiation combinée à l'ajout de nanoparticules). Ainsi, un $SER_{10\%}$ supérieur à 1 marquera une efficacité plus importante d'un traitement par rapport au traitement standard.

L'utilisation d'un tel facteur nécessite de faire plusieurs points de doses pour chaque condition expérimentale à tester. Pour des raisons de lourdeur de manipulation et de temps de faisceau, nous avons utilisé un dérivé du $SER_{10\%}$, que nous avons appelé le SER_{4Gy} , permettant de comparer les réponses de traitements, pour une dose de 4 Gy, en fonction de paramètres comme l'énergie d'irradiation. Ce facteur est décrit dans le paragraphe suivant.

2.2.3.2 Protocole expérimental en présence de gadolinium

Lors des expériences de radiosensibilité réalisées sur la ligne biomédicale de l'ESRF, la réponse cellulaire a été étudiée en fonction des conditions d'incubation avec les nanoparticules, de la forme du gadolinium (NP ou Magnevist®) et de l'énergie d'irradiation.

Le protocole expérimental suivi pour les tests clonogéniques est le suivant :

- Les cellules F98 sont mises en culture trois jours avant incubation dans des plaques 96 puits.
- Pour les conditions nécessitant une incubation, le milieu de culture est prélevé et remplacé par un milieu mélangé à 2,1 mg/ml de GdNP pendant le temps d'incubation souhaité (5 h).
- Une fois le temps écoulé, le milieu est prélevé et gardé ou non selon la condition. Les cellules sont rincées au PBS, décollées de la plaque (avec de la tripsine), centrifugées et reprises dans des eppendorfs de 1,5 ml soit avec du milieu neuf soit

avec du milieu contenant les GdNP ou du Magnevist® à différentes concentrations selon le cas.

- Les cellules sont irradiées à 4 Gy ou seulement laissées sur la paillasse pendant 15 min selon la condition.
- Au retour de l'irradiation les cellules sont centrifugées, reprises et comptées à l'aide d'un compteur automatique de cellules.
- Une fois la concentration cellulaire connue pour chaque condition, les cellules sontensemencées dans des boîtes de petri (de diamètre 10 cm) contenant 8 ml de milieu de culture.
- Trois quantités différentes de cellules sontensemencées pour couvrir une plage importante de survie cellulaire. Trois boites sont faites pour chaque quantité (triplicat) et la mesure est répétée trois fois afin d'obtenir une erreur statistique correcte sur la mesure de survie. Pour chacune des conditions, 27 boites de petri sont doncensemencées.
- Les boites de petri restent dans l'incubateur pendant 12 jours puis sont rincées et colorées avec du cristal violet, ce qui tue les cellules et les fixe.
- Le nombre de colonies comptées, comportant plus de 50 cellules, correspondra ensuite à la survie, ramenée au nombre de cellules initialementensemencées dans chacune des boites.

Les conditions étudiées sont décrites ci-dessous et représentées schématiquement sur la Figure 2.11.

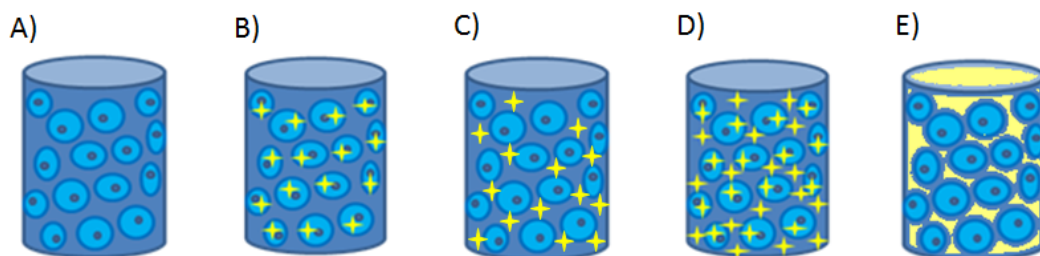


Figure 2.11: Représentation schématique des conditions expérimentales étudiées quant à la microdistribution du gadolinium lors de l'irradiation cellulaire : contrôle (A), GdNP internes (B), externes (C) ou internes et externes (D) et Magnevist® (E).

- A) Condition de contrôle : les cellules F98 sont seulement irradiées dans du milieu de culture, sans gadolinium.
- B) GdNP internes : les cellules sont incubées 5 h avec les GdNP, puis rincées au PBS et reprises dans du milieu de culture avant irradiation. Dans ce cas les GdNP se trouvent seulement à l'intérieur des cellules (ou sur la membrane) à une concentration de 0,6 mg/ml au moment de l'irradiation.
- C) GdNP externes : les cellules ne sont pas incubées avec les GdNP, celles-ci sont ajoutées dans le milieu de culture juste avant irradiation à la concentration de 2,1 mg/ml. Dans ce cas le gadolinium se trouve dans le milieu extra-cellulaire

sous la forme de nanoparticules au moment de l'irradiation.

- D) GdNP internes et externes : les cellules sont incubées 5 h avec les GdNP mais ne sont pas rincées avant l'irradiation. Dans ce cas les GdNP se trouvent à la fois à l'intérieur des cellules (ou sur la membrane) à une concentration de 0,6 mg/ml et à l'extérieur des cellules à une concentration de 1,8 mg/ml (mesure des NP restant dans le milieu après incubation par ICP-MS) au moment de l'irradiation.
- E) Magnevist® : Le Magnevist® est ajouté juste avant irradiation à la concentration de 2,1 mg/ml. Dans ce cas le gadolinium se trouve dans le milieu extra-cellulaire sous une forme homogène au moment de l'irradiation.

Pour chaque condition, les cellules sont irradiées en suspension à une dose de 4 Gy. L'effet de l'énergie du faisceau de photon sur la réponse biologique en présence de gadolinium a été étudié pour sept basses énergies synchrotron de part et d'autre de la couche K du gadolinium (25, 31, 40, 49,5, 51, 65 et 80 keV) et pour une haute énergie avec une source au cobalt 60 (raies d'émission gamma principales de 1,172 et 1,333 MeV, énergie moyenne prise à 1,25 MeV). Pour chaque énergie, le temps d'irradiation nécessaire pour atteindre 4 Gy est calibré avec une chambre d'ionisation Farmer PTW (0,6 cm³). La mesure est faite dans l'air et les coefficients d'étalonnage sont appliqués pour obtenir l'équivalent de la dose absorbée dans l'eau.

Cette étude en énergie a permis de déterminer la nature de la radiosensibilité en présence de nanoparticules et de l'optimiser dans un but thérapeutique. Comme cela a été introduit dans la section précédente, l'augmentation de la réponse cellulaire en présence de gadolinium a été quantifiée en utilisant un dérivé du *sensitizer enhancement ratio*, le SER_{4Gy} . Il s'agit non plus d'un rapport de dose, mais de survie obtenue dans le cas du traitement de contrôle sans gadolinium ($S_{contrôle}$) sur la survie en présence de gadolinium (S_{Gd}) pour une même dose d'irradiation de 4 Gy :

$$SER_{4Gy} = \frac{S_{contrôle}}{S_{Gd}}$$

Les survies $S_{contrôle}$ et S_{Gd} sont déjà normalisées par la survie cellulaire sans irradiation. Chaque mesure étant répétée trois fois, l'incertitude $\sigma_{\overline{SER}}$ associée au SER_{4Gy} moyen (noté \overline{SER} dans la formule) est calculée comme l'écart type sur les trois mesures :

$$\sigma_{\overline{SER}} = \sqrt{\sum_{i=1}^3 (SER_i - \overline{SER})^2}$$

De la même manière que pour le $SER_{10\%}$, un SER_{4Gy} supérieur à 1 signifiera que le traitement en présence de gadolinium est plus efficace sur la tumeur par rapport à l'irradiation seule ou par rapport aux tissus sains environnants qui ne seraient pas chargés en éléments lourds.

Les résultats obtenus sont décrits dans le chapitre suivant (section 3.2). Les simulations décrites dans le chapitre 3 ont été en grande partie basées sur ces conditions expérimentales dans un but de corrélation des données calculées et mesurées.

2.2.4 Expériences réalisées avec de l'or

La première campagne de mesures, réalisée en 2010, a porté sur l'étude de nanoparticules d'or (AuNP) de 1,9 nm, synthétisées par la société Nanoprobes® [Nanob] (dirigée par James F. Hainfeld). L'intérêt porté sur de telles nanoparticules faisait suite à un article publié en 2004 montrant l'importante efficacité de ces AuNP pour traiter des souris porteuses de tumeurs sous-cutanées [Hain 04].

Une étude clonogénique a été réalisée par irradiation de cellules F98 en présence de ces nanoparticules (concentration de 10 mg/ml, NP non-incubées), au faisceau synchrotron. Une comparaison a été faite avec plusieurs doses d'irradiation à une énergie de 50 keV afin d'évaluer le $SER_{10\%}$ pouvant être obtenu dans ces conditions. Une autre comparaison a été faite en considérant plusieurs énergies (50, 65, 80, et 82 keV) avec une dose de 4 Gy, afin d'étudier la réponse biologique en fonction de l'énergie d'irradiation, notamment autour du seuil K de l'or (80,7 keV). L'étude avec différentes énergies de faisceau a également été réalisée avec de l'Allochrysine, un médicament à base d'or, pour étudier la forme moléculaire de l'élément lourd comme cela avait été dit au paragraphe 2.2.1.

Nous avons été confrontés à des difficultés pour l'exploitation des résultats obtenus lors de cette campagne de mesure. Cela a notamment été dû à de grandes disparités entre les survies mesurées des différents réplicats pour certaines conditions, menant parfois à des points aberrants qui n'ont pas pu être pris en compte. Les points restants ont permis d'obtenir des facteurs d'augmentation de la mort cellulaire en présence de AuNP ou d'Allochrysine de l'ordre de 1,36 jusqu'à 3,6 mais présentant des incertitudes souvent de l'ordre de la valeur, rendant difficile l'exploitation des résultats. Le temps de faisceau synchrotron étant précieux, il a été choisi avec l'équipe de l'ESRF de ne pas refaire ces mesures. Les deux raisons principales concernent le coût important de ces nanoparticules, nous forçant à limiter le nombre de mesures et de conditions testées, mais aussi la méconnaissance des éléments qui composent les nanoparticules (secret de fabrication de Nanoprobes®), limitant les interprétations qui peuvent être données aux résultats.

Une collaboration ayant été démarrée par la suite entre l'équipe d'Olivier Tillement, à Lyon, et celle de l'INSERM, le choix a été porté sur les nanoparticules de Gadolinium décrites précédemment.

2.2.5 Comparaisons statistiques

Aux chapitres 3 et 4, les résultats de simulation ont parfois été comparés à des résultats expérimentaux afin de rechercher des corrélations entre un phénomène physique et une réponse biologique. Afin d'appuyer nos interprétations nous avons utilisé un test statistique adapté à notre problématique. Étant donnée la petite taille des échantillons à comparer, nous nous sommes orientés vers un test non-paramétrique (c'est-à-dire ne supposant pas de distributions sur les observations) de comparaison de deux échantillons [Step 74]. Ce test permet de confronter les deux hypothèses suivantes :

- H_0 = les échantillons sont distribués suivant la même loi
- H_1 = les échantillons ne sont pas distribués suivant la même loi

Le test de Kolmogorov-Smirnov (K-S) à deux échantillons permet de confronter ces deux hypothèses, mais nous avons choisi le test d'Anderson-Darling (A-D) à deux échantillons qui est plus puissant. La puissance d'un test statistique est la probabilité de rejeter H_0 sachant qu'elle est fausse, autrement dit elle mesure la capacité à rejeter un faux négatif.

Nous prendrons dans la suite 0,05 comme valeur seuil de la *p-value* pour le rejet de l'hypothèse H_0 .

2.3 Les codes Monte Carlo

2.3.1 Introduction générale sur la méthode de Monte Carlo

La méthode de Monte-Carlo consiste à simuler un phénomène stochastique par essence à partir de nombres pseudo-aléatoires et de distributions de probabilité associées aux processus physiques étudiés. Cette méthode est particulièrement bien adaptée au transport des particules dans la matière et a d'ailleurs été développée dans ce but vers la fin de la seconde guerre mondiale pour les applications nucléaires.

Pour le transport des particules, les conditions initiales de la source, permettant la génération des particules dites « primaires », sont déterminées par l'utilisateur du code. Ce dernier détermine aussi la géométrie dans laquelle les particules seront transportées. Une particule primaire peut ensuite interagir, donnant lieu à son absorption ou diffusion dans la matière et éventuellement à la création de particules secondaires. A chaque étape du transport, l'utilisation de nombres pseudo-aléatoires permet de sélectionner le type d'interaction et les modifications que la particule subit selon des lois de probabilités. Ces lois dérivent de la physique décrite dans les paragraphes précédents et dépendent de l'énergie de la particule et du matériau (cf. section 2.1 et 2.1.5). Les nombres pseudo-aléatoires sont générés à partir d'algorithmes mathématiques, le générateur le plus répandu étant la méthode des congruences linéaires. La suite de nombres créée est dite pseudo-aléatoire dans le sens où elle est de période suffisamment longue pour avoir un aspect aléatoire, en étant cependant parfaitement reproductible. Cette suite peut être modifiée en changeant un nombre initial de l'algorithme, appelé « graine ».

L'ensemble des étapes de parcours d'une particule primaire et des particules secondaires créées, jusqu'à leur absorption dans le milieu, est appelée une « histoire ». En simulant une grande quantité d'histoires, il est possible d'obtenir *in fine* une grandeur moyenne et d'estimer la fluctuation statistique associée. L'incertitude statistique associée à la valeur moyenne d'une variable aléatoire \bar{X} , calculée par simulation Monte

Carlo, est définie comme l'écart-type de cette moyenne et peut être estimée par :

$$\sigma_{\bar{X}} = \sqrt{\frac{1}{N} \left[\left(\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_i^2 \right) - \bar{X}^2 \right]}$$

N étant le nombre d'événements primaires simulés.

Cette définition peut s'appliquer par exemple à l'incertitude sur l'énergie déposée totale ou la dose absorbée calculée sur l'ensemble des événements, ces grandeurs étant vues comme des variables aléatoires. Dans le domaine de la physique médicale, il est actuellement admis que la méthode de Monte Carlo est la plus précise pour le calcul de telles grandeurs [Reyn 07], dans la limite néanmoins de la bonne connaissance des sections efficaces et des approximations souvent réalisées pour accélérer le calcul, le procédé de simulation pouvant être en effet très long.

2.3.2 Transport des photons

Le transport des photons est réalisé « interaction-par-interaction » car le nombre d'interactions intervenant sur leur parcours est faible. Le transport se fait donc, comme introduit dans le paragraphe précédent, en échantillonnant la distance à la prochaine interaction à partir des tables de sections efficaces pour le matériau et l'énergie en question. La suite du transport dépend de l'interaction choisie. De nouveaux échantillonnages permettent de déterminer le changement de direction et/ou la perte d'énergie occasionnés. S'il y a eu ionisation d'un atome composé de plusieurs couches atomiques, la désexcitation de l'atome est simulée, menant à la production de photons de fluorescence ou d'électrons Auger/Coster-Krönig selon les tables de relaxation atomique propres à chaque élément. Dans le cas où des particules secondaires sont créées, celles-ci sont stockées dans une « pile des secondaires » et ne seront suivies qu'une fois la particule primaire arrivée à la fin de son parcours, en étant absorbée ou en sortant du volume d'intérêt.

2.3.3 Transport des électrons

Le transport des électrons est plus compliqué à cause du très grand nombre de diffusions élastiques subies sur leur trajectoire, entraînant des changements de direction et des pertes d'énergie très fréquentes. Ainsi, la prise en compte dans le calcul de chaque interaction de manière individuelle engendre un temps de calcul rapidement problématique. Par exemple dans le cas du transport dans de l'or, Berger et Wang [Berg 88] estiment qu'un électron peut faire environ 7000 diffusions élastiques en passant d'une énergie de 500 à 250 keV.

Pour pallier ces problèmes, Berger [Berg 63] a développé en 1963 une méthode dite « condensée », adaptée au transport Monte Carlo des particules chargées, qu'il utilise dans le code Monte Carlo pionnier ETRAN [Berg 73]. Cette méthode consiste à regrouper un certain nombre de collisions et de calculer la perte d'énergie et la déflexion

angulaire associée. L'histoire de l'électron est alors découpée en plusieurs segments, appelés « pas », correspondant à ces regroupements.

Berger considère deux grandes classes de codes Monte Carlo : les codes de classe I utilisent exclusivement une méthode condensée (ETTRAN par exemple) alors que les codes de classe II utilisent un procédé de simulation mixte. Ces derniers associent la méthode condensée pour les interactions dites « soft » et un transport détaillé pour les interactions dites « hard ». Les interactions « soft » sont caractérisées par une déviation angulaire et une perte d'énergie faibles dont les seuils sont réglés à partir de différents paramètres. Dans les codes utilisant des algorithmes de classe II, l'utilisateur doit définir ces seuils selon le détail de calcul souhaité (cf. section 2.3.5 pour le détail de tels paramètres). Le regroupement de la perte d'énergie, entre deux événements définis comme « hard », peut être calculé en première approximation avec la CSDA. Pour avoir une meilleure description du caractère aléatoire, il faut prendre en compte les fluctuations des pertes d'énergie autour de cette perte moyenne. Les déflexions angulaires élastiques qui ont lieu entre deux événements « hard » sont quant à elles regroupées selon la théorie de la diffusion multiple, le formalisme le plus répandu étant celui de Goudsmit-Saunderson [Goud 40]. Il faut cependant noter que le calcul des pertes en énergie et des déflexions angulaires ne sont pas indépendants et ils présentent des corrélations prises en compte dans les codes de transport.

2.3.4 Les différents codes Monte Carlo utilisés dans le domaine médical

Les codes Monte Carlo majoritairement utilisés pour l'application générale de la physique médicale sont les suivants [Reyn 07] :

- EGSnrc : code le plus répandu dans le milieu de la physique médicale [Kawr 00] qui permet le transport des photons, des électrons et des positrons. Les codes BEAMnrc et DOSXYZnrc en sont dérivés, dédiés plus particulièrement à la radiothérapie externe et à la dosimétrie [Roge 95].
- PENELOPE : code général de transport des photons, des électrons et des positrons, développé pour les applications de la physique médicale et plus particulièrement de la radiothérapie externe [Salv 06].
- MCNPX : développé au Laboratoire national de Los Alamos, initialement pour le domaine de la physique nucléaire [Pelo 05, MCNP]. Ce code est plus complet que les deux précédents et permet de transporter d'autres particules, telles que les protons et les neutrons.
- Geant4 : développé au CERN (Centre Européen pour la Recherche Nucléaire), initialement pour la physique des hautes énergies, qui s'est aujourd'hui étendu à presque tous les domaines de la physique du rayonnement [Agos 03, Gean]. Les codes GATE (dédié à l'imagerie nucléaire et plus récemment à la radiothérapie [Jan 04]), GAMOS (dédié aux applications de physique médicale [Arce 11]) et TOPAS (dédié à la protonthérapie [Perl 12]) en sont dérivés.

Les codes PENELOPE et EGSnrc sont restreints actuellement au transport des photons, des électrons et des positrons mais ont l'avantage d'avoir été développés à l'origine pour les applications de la physique médicale et sont donc adaptés aux énergies d'intérêt des rayonnements, allant du keV à quelques dizaines de GeV. Ces deux codes appartiennent à la classe II définie par Berger quant au transport des électrons alors que le code MCNPX est de classe I (cf. section 2.3.3). Geant4 est difficile à classer selon ces catégories car le mode de transport qu'il utilise dépend des modèles qui sont appelés. Le transport standard est de classe II mais peut aussi être entièrement détaillé en utilisant par exemple l'extension Geant4-DNA (cf. section 2.3.6). Vilches *et al.* [Vilc 07] ont réalisé une comparaison entre des résultats obtenus avec ces quatre codes principaux et des données expérimentales de deux publications différentes, la grandeur étudiée étant la distribution angulaire des électrons à la sortie de feuilles fines de métaux. Tous les codes ont montré des différences significatives avec les résultats expérimentaux. Les codes EGSnrc et PENELOPE (version 2005) ont montré globalement un meilleur accord que les autres codes sur l'ensemble des comparaisons expérimentales. Ces deux codes ont par ailleurs donné des résultats très similaires entre eux pour toutes les comparaisons, ce qui est normal du fait que le modèle de transport des électrons est très proche entre les deux codes.

Si les quatre codes sont bien adaptés à la modélisation de la plupart des applications de physique médicale, il existe cependant une limitation pour le transport des électrons à des énergies inférieures à 1 keV. En deçà de cette énergie, des incertitudes importantes doivent être considérées à cause, entre autre, de la méconnaissance des sections efficaces, mais aussi des limites des modèles de calcul considérés.

Ainsi, il existe une autre catégorie de codes de simulation purement détaillés, adaptés au suivi des électrons de très faible énergie (de l'ordre de 1 eV à 100 keV). Ces codes sont mis au point et développés pour des applications très spécifiques comme la micro et la nanodosimétrie, ou la radiobiologie. Certains de ces codes peuvent aussi permettre le suivi des espèces chimiques créées jusqu'aux dommages moléculaires (dommages ADN principalement). Parmi eux, on compte les codes Celldose [Cham 08], Partrac [Frie 98], NOREC [Seme 03], CPA100 [Terr 90] et la physique aujourd'hui disponible de Geant4-DNA [Ince 10] qui permettent cette précision de transport des électrons dans l'eau.

La spécificité de ces codes est aussi un désavantage, le plus problématique pour des applications comme celle de la photoactivation des nanoparticules étant la restriction des matériaux disponibles pour les transports d'électrons de très basse énergie, généralement limités à l'eau.

Une revue sur les différents codes Monte Carlo existants pour la physique des radiations a été publiée en 2006 par Nikjoo *et al.* [Nikj 06].

2.3.5 PENELOPE

Le code Monte Carlo principalement utilisé dans ce travail est le code PENELOPE, avec une version modifiée utilisée au laboratoire d'accueil de la thèse, laboratoire modélisation et simulation des systèmes (LM2S, CEA, LIST). Le code PENELOPE est utilisé depuis de nombreuses années pour les applications de la physique médicale au LM2S, en partenariat notamment avec des industriels (Dosisoft, Elekta...) et avec le laboratoire de métrologie de référence Henri-Becquerel (LNHB, CEA). Le LM2S a donc aujourd'hui une expertise autour de PENELOPE et de la simulation Monte Carlo en général. Des développements ont été faits en particulier pour améliorer les techniques de réduction de variance et de parallélisation du code permettant d'utiliser la puissance de calcul d'un cluster dédié.

2.3.5.1 Description du code et bases de données

PENELOPE a été développé à l'université de Barcelone par Francesc Salvat, José M. Fernández-Varea et Josep Sempau en 1995, initialement pour le transport des électrons et positrons sous l'appellation *PENetration and Energy LOss of Positrons and Electrons*. Le transport des photons a été implémenté plus tard. Ce code est écrit en Fortran 77. La version utilisée pour la thèse est la version 2006 [Salv 06], qui permet le transport des photons et des électrons sur une gamme d'énergie allant de 50 eV à 1 GeV. Cependant, les développeurs préviennent que pour les énergies inférieures à 1 keV, les modèles physiques ne sont plus adaptés et des incertitudes importantes doivent être considérées.

Les algorithmes de simulation de PENELOPE utilisent, pour le transport des particules, une combinaison de tables de données numériques et de modèles analytiques basés sur la physique des interactions. Les sections efficaces des interactions des photons sont tirées d'interpolations numériques basées sur la bibliothèque LLNL (*Lawrence Livermore National Laboratory Evaluated Photon Data Library* (EPDL, [Cull 97])). Les probabilités de transitions atomiques proviennent de la bibliothèque LLNL *Evaluated Atomic Data Library* (EADL, [Perk 91a]). Les sections efficaces utilisées pour décrire les pertes d'énergie des électrons et positrons par rayonnement bremsstrahlung sont basées sur un modèle analytique de Seltzer et Berger [Selt 86]. Les sections efficaces de diffusion de ces mêmes particules sur les atomes du milieu, dans un modèle d'atomes libres, sont calculées à partir du programme ELSEPA (*ELastic Scattering of Electrons and Positrons by Atoms*), écrit par Salvat *et al.* en 2005 [Salv 05]. Ces sections efficaces s'avèrent être aujourd'hui la description théorique la plus fiable des diffusions élastiques subies par des électrons d'énergie cinétique supérieure à 10 keV. Cela est lié à l'utilisation de la méthode dite de « random-hinge » qui permet la description des déflexions angulaires subies par les électrons lors des multiples collisions « soft » [Fern 93], une particularité de PENELOPE par rapport aux autres codes Monte Carlo de même type.

De façon pratique pour l'utilisateur, le code est construit à partir d'un programme principal, appelé *penmain*. Celui-ci appelle plusieurs *subroutines* nécessaires au transport et permet de lancer une simulation personnalisée si trois fichiers d'entrée lui sont

fournis : un fichier *.in* contenant la source et les paramètres de simulation (dont certains sont décrits dans le paragraphe suivant), un fichier *.geo* décrivant la géométrie de simulation souhaitée et un fichier *.mat* contenant les caractéristiques physiques pour les différents matériaux de la géométrie. De nombreuses informations peuvent être tirées de la simulation, telles que l'énergie cinétique des particules, l'énergie déposée ou la dose moyenne par volume (appelés *BODY*), ou encore une carte de dose voxelisée sur l'ensemble de la géométrie. PENELOPE fournit les incertitudes statistiques associées à ces valeurs, estimées selon la formule décrite en section 2.3.1. La variance est multipliée par trois afin d'avoir un intervalle de confiance sur les valeurs moyennes d'environ 99,7 %.

2.3.5.2 Paramètres de simulation

Comme indiqué dans la section 2.3.3, PENELOPE utilise une méthode mixte pour le transport des électrons et positrons dépendant de paramètres à déterminer selon le détail souhaité. Les quatre paramètres qui déterminent le mode de transport, C_1 , C_2 , W_{CC} et W_{CR} , sont décrits ci-dessous :

- C_1 : cet indice est lié à la déflexion angulaire maximum autorisée pour les interactions « soft », valeur au delà de laquelle la simulation sera effectuée en détail. C_1 peut prendre des valeurs de 0 (simulation entièrement détaillée) à 0,2 (correspondant à une déviation angulaire de 37°).
- C_2 : c'est la fraction d'énergie maximale que les particules peuvent perdre dans un pas, entre deux collisions élastiques « hard ». C_2 peut aussi prendre des valeurs de 0 à 0,2.
- W_{CC} : il s'agit d'une coupure en énergie (unité en eV) de la perte maximale pour les collisions inélastiques « soft ».
- W_{CR} : coupure en énergie (unité en eV) de la perte maximale pour les interactions « soft » avec émission bremsstrahlung. Une valeur négative attribuée à ce paramètre sélectionne automatiquement le seuil minimum de 10 eV, en deçà duquel l'émission de rayonnement de freinage est négligeable.

Les valeurs de ces paramètres doivent être précisées dans le fichier *.in* pour chaque matériau utilisé. Les recommandations du manuel indiquent que les paramètres C_1 et C_2 doivent prendre des petites valeurs ($< 0,01$) pour assurer un transport le plus précis possible, mais cela est au détriment du temps de calcul. Si un calcul rapide est souhaité il faut augmenter ces valeurs. Dans le cas de simulation dans de très petits volumes nécessitant une précision très importante, la simulation peut être réalisée en mode entièrement détaillé en utilisant le jeu de paramètres suivant : $C_1 = C_2 = 0$, $W_{CC} = 0$ et $W_{CR} = -100$ [Salv 06]. C'est ce jeu de paramètres qui a été utilisé dans ce travail pour la simulation d'objets de taille inférieure à quelques micromètres.

Deux autres paramètres servent aussi à adapter la précision du calcul : s_{max} et E_{abs} . Dans le cadre de la simulation mixte, s_{max} est la distance maximale possible parcourue par les électrons, que l'utilisateur doit définir pour chaque élément de la géométrie, ou chaque « BODY ». Ce paramètre est particulièrement important pour les petits

volumes à l'intérieur desquels le nombre de pas ne serait pas suffisamment important pour que le résultat soit statistiquement fiable. Pour préserver un détail suffisant de transport, il est recommandé par les développeurs du code d'utiliser un s_{max} au moins égal à un dixième de la taille du volume traversé. C'est ce qui a été choisi pour chacune de nos simulations.

E_{abs} est l'énergie cinétique de coupure en deçà de laquelle les particules ne sont plus suivies, l'énergie restante étant absorbée localement. Cette quantité doit être définie par l'utilisateur, cette fois pour chaque type de particule (électron, photon et positon). Elle prend comme valeur minimum 50 eV.

2.3.5.3 Réduction de variance : *Forced*

Les techniques de réduction de variances sont des pondérations introduites dans la simulation qui permettent d'améliorer l'incertitude statistique sur une grandeur souhaitée pour un même nombre de particules primaires simulées. Les pondérations sont attribuées à chaque particule secondaire produite et à leurs dépôts d'énergie résultants, afin de ne pas fausser les lois physiques d'interaction mises en jeu. Ces méthodes permettent de diminuer considérablement le temps de calcul et d'obtenir des résultats statistiquement fiables dans des situations où la probabilité d'occurrence d'un événement souhaité est extrêmement faible. Il s'agit justement d'un problème majeur rencontré pour la simulation des petits objets, comme les cellules (de l'ordre du micromètre) ou les nanoparticules. En effet, pour ces échelles de volumes et pour des énergies de quelques dizaines à quelques centaines de keV, la probabilité qu'un photon primaire interagisse est de l'ordre de 10^{-3} à 10^{-6} .

La technique de réduction de variance *Forced* a joué un rôle essentiel dans ce travail. Cette technique a été adaptée pour la problématique dans PENELOPE par François Tola, au laboratoire LM2S. Elle permet de forcer la particule primaire à interagir au moins une fois lorsque celle-ci traverse un volume d'intérêt préalablement défini par l'utilisateur. À l'entrée de ce volume, deux particules sont créées : l'une continue le long de sa trajectoire initiale jusqu'à la prochaine interface sans avoir interagi, tandis que l'autre subit une interaction choisie parmi celles qui lui sont permises. Les deux particules se voient attribuer un poids représentant la probabilité réelle pour que ces événements aient effectivement eu lieu. De cette manière les grandeurs calculées dans le volume d'intérêt, pondérées par ces probabilités, demeurent conformes aux sections efficaces physiques réelles mais avec des incertitudes statistiques bien meilleures que si la simulation avait été faite sans réduction de variance.

2.3.5.4 Avantages et limites du code

Cette technique de réduction de variance s'est avérée extrêmement puissante pour les simulations réalisées au cours de la thèse. De plus, PENELOPE a pu être parallélisé au laboratoire sur les processeurs d'un cluster dédié, permettant de gagner un temps de calcul précieux pour les simulations les plus coûteuses en temps. Concernant le modèle de transport mixte des électrons, il a été montré que celui de PENELOPE était l'un

des plus avancées et fiables pour des énergies supérieures à 10 keV [Salv 05]. Le fait aussi qu'il permette le passage en mode de transport entièrement détaillé en fait un argument de choix pour les applications nécessitant une précision micrométrique avec un outil général permettant l'utilisation de nombreux matériaux.

Plusieurs publications ont démontré les capacités de PENELOPE pour les applications de la microdosimétrie, par exemple dans les études de dommages à l'échelle cellulaire et sub-cellulaire [Stew 01, Hugt 07, Chao 12]. D'autres publications ont aussi montré la capacité du code en descendant à l'échelle nanométrique pour l'étude des dommages à l'ADN [Hsia 07, Bern 09].

Cependant, Fernández-Varea *et al.* [Fern 12] ont mis en évidence des limitations du code pour une utilisation en nanodosimétrie, discutant le modèle de calcul des collisions inélastiques des électrons (modèle de Sternheimer-Liljequist). D'autres limitations ont été expérimentées durant la thèse et concernent principalement la flexibilité de l'outil de géométrie et des grandeurs pouvant être extraites de la simulation. En effet, le nombre de volumes différents pouvant être simulés dans PENELOPE est restreint à quelques milliers et doivent être regroupés par sous-groupes, ceci afin d'optimiser le temps de calcul pour les géométries complexes. Cette limite est un problème pour la modélisation des nanoparticules à l'échelle cellulaire (l'un des objectifs de la thèse) pour lequel le nombre de volumes à modéliser est de l'ordre du million. Des modifications pourraient être apportées directement à PENELOPE pour adapter le code à des géométries plus complexes, mais ces améliorations dépassaient le cadre de cette thèse.

C'est pourquoi le code Geant4 a été utilisé pour pallier ce problème, ce code étant notamment réputé pour ses outils puissants de géométrie. Une description rapide du code et les avantages pour nos applications sont discutées dans le paragraphe suivant.

2.3.6 Geant4

Geant4 (pour GEometry ANd Tracking) est un outil de simulation, codé en C++, qui a été développé au CERN en 1998 (première version publique diffusée en 2001), faisant suite à la version Geant3 initialement écrite en Fortran. Une version accessible gratuitement et régulièrement mise à jour est fournie sur le site de la collaboration Geant4 [Gean]. Comme cela avait été introduit en section 2.3.4, Geant4 a été initialement créé dans le but de simuler des détecteurs de grande complexité pour la physique des hautes énergies dans les domaines de la physique nucléaire, de la physique des accélérateurs et de l'astrophysique. L'accès aujourd'hui aux processus et modèles d'interactions des particules de basse énergie permet de l'utiliser dans le domaine de la physique médicale.

Pour cette thèse, Geant4 a principalement été utilisé pour pouvoir modéliser un très grand nombre de nanoparticules (de l'ordre du million) et pour retirer des informations de manière plus flexible le long des traces des particules.

2.3.6.1 Fonctionnement général du code

Geant4 est un outil mettant à disposition un très grand nombre de classes adaptées à tous les types de physique du rayonnement, l'utilisateur devant appeler dans sa propre application celles qui lui sont utiles. L'application est structurée à partir d'une méthode principale, le *main*, qui comporte en premier lieu une instance de la classe *G4RunManager* nécessaire pour l'initialisation et le déroulement d'une simulation. Trois informations obligatoires doivent lui être fournies :

- La géométrie, décrite avec la classe *G4UserDetectorConstruction*. Dans cette classe sont décrits la structure des différents volumes composant la cible, leur position, les matériaux nécessaires à notre étude et les attributs de visualisation.
- La physique, avec la classe *G4UserPhysicsList*. Sont définis ici les particules nécessaires à notre étude (électrons et photons), les processus physiques d'interaction (électromagnétique ici) associés à chacune de ces particules et aux matériaux (processus de relaxation) et enfin les seuils de production des particules secondaires.
- La source, avec la classe *G4UserPrimaryGeneratorAction*. Les caractéristiques initiales de la particule y sont définies : type, énergie, nombre de particules, direction, distribution spatiale de la source et divergence de faisceau le cas échéant. Dans notre cas la source sera essentiellement surfacique, de forme circulaire ou carrée, générant un faisceau de photons non-divergents.

Ensuite d'autres classes optionnelles, appelées classes d'*action*, peuvent être utilisées afin de récupérer des informations à différentes étapes de la simulation. Les trois classes principales qui ont été utilisées sont les suivantes :

- *G4UserSteppingAction* qui permet d'obtenir des informations au début ou à la fin de chaque pas des particules (appelé *Step*). De nombreuses informations peuvent être connues à travers cette classe. Il est possible par exemple de connaître à chaque pas de la particule : sa nature, son identifiant, celui de son parent (s'il s'agit d'une particule secondaire), le matériau et le volume dans lequel elle se trouve, le processus d'interaction qu'elle a subi, la perte d'énergie, l'énergie cinétique de la particule, sa position et sa direction. Toutes ces informations peuvent être enregistrées éventuellement dans des objets de stockage, comme les histogrammes ou les *TTree* (objets du code ROOT pouvant être manipulés dans Geant4).
- *G4UserEventAction* qui permet d'obtenir des informations au début et à la fin d'un *Event*, c'est à dire d'une histoire, qui inclut la particule primaire et l'ensemble de ces descendants. L'ensemble des histoires constitue le *Run*.
- *G4UserRunAction* qui permet d'obtenir et d'utiliser des informations au début et à la fin d'un *Run*, c'est à dire de l'ensemble de la simulation pour une condition donnée. C'est au début du *Run* que sont créés et initialisés les histogrammes le cas échéant, et à la fin qu'ils seront enregistrés dans un fichier *.root*. Des informations

telles que l'énergie totale déposée dans un volume donné au cours de la simulation peuvent être sauvées par exemple.

Compte tenu du fait que l'utilisateur est libre d'appeler les classes qui lui sont nécessaires et de tirer les informations qui l'intéressent, l'incertitude statistique sur une grandeur n'est pas calculée automatiquement par Geant4 et doit donc être calculée par l'utilisateur. Afin de comparer les données calculées dans Geant4 avec celles que donne le code PENELOPE, l'incertitude statistique a été estimée de la même façon (cf. section 2.3.1 et 2.3.5.1) selon la formule :

$$\Delta_{\bar{X}} = 3 \sigma_{\bar{X}} = 3 \sqrt{\frac{1}{N_{event}} \left[\frac{1}{N_{event}} \sum_{i=1}^{N_{event}} x_i^2 - \bar{X}^2 \right]}.$$

Il s'agit ici de l'incertitude statistique $\Delta_{\bar{X}}$ sur une grandeur moyenne cumulée dans un *Run* \bar{X} et ramenée au nombre d'*Event* simulés N_{event} . Les éléments x_i correspondent à la grandeur cumulée dans chacun des *Event*.

Une autre différence pratique avec le code PENELOPE est le fait que Geant4 ne permet pas de lancer des calculs parallélisés sur un cluster. Afin néanmoins d'utiliser plusieurs ordinateurs pour gagner du temps de calcul sur les simulations les plus longues, une méthode de pseudo-parallélisation a été utilisée. Cette méthode a consisté à multiplier le nombre de simulations, en simulant par exemple dix *Run* de 10^8 photons sur dix processeurs au lieu d'un seul de 10^9 photons sur un seul. La *graine* de la simulation doit être changée pour chacun des *Run* de manière à obtenir à la fin des résultats indépendants. Les résultats sont ensuite concaténés et moyennés indépendamment de Geant4, l'incertitude associée au résultat final $\sigma_{\bar{X}}$ étant estimée à partir de la relation :

$$\sigma_{\bar{X}} = \frac{1}{\sqrt{n}} \frac{\sum_{i=1}^n \sigma_{\bar{X}_i}}{n}$$

n étant ici le nombre de simulations, \bar{X}_i le résultat récupéré depuis Geant4 de la grandeur moyenne sur chaque *Run* et $\sigma_{\bar{X}_i}$ les incertitudes statistiques associées.

2.3.6.2 Physique de basse énergie et paramètres utilisés

Dans la collaboration Geant4, il existe un groupe de travail dirigé par Sébastien Incerti, appelé *Low Energy Electromagnetic Physics working group* [Chau 04], qui, comme son nom l'indique, s'intéresse aux processus électromagnétiques adaptés à la physique de basse énergie, principalement dédié aux applications médicales. Ce groupe fournit un ensemble de modèles physiques adaptés au transport des photons, électrons et ions légers jusqu'à de très basses énergies (quelques eV selon le modèle) et incluant les processus de relaxation atomique.

Les trois modèles physiques disponibles sont ceux de *Livermore*, *PENELOPE* et *DNA*.

Les modèles *Livermore* et *PENELOPE* permettent d'étendre la validité des processus électromagnétiques à des énergies plus faibles (jusqu'à 250 eV pour *Livermore* et 100 eV pour *Penelope*) que celles proposées par les modèles standard de Geant4 (990 eV). Le modèle de *Livermore* tire ses bases de données, pour le calcul des sections efficaces, du *Lawrence Livermore National Laboratory* (LLNL) incluant la bibliothèque EEDL (pour *Evaluated Electrons Data Library*, [Perk 91b]) pour les électrons et, comme *PENELOPE*, les bibliothèques EPDL97 pour les photons et EADL pour les relaxations atomiques. Le modèle physique *PENELOPE* est tiré de la version 2008 du code Monte Carlo *PENELOPE* (cf. section 2.3.5).

Le modèle *DNA* [Ince 10, Kara 12] est une extension qui va beaucoup plus loin dans la précision de transport des électrons et des ions légers, incluant des sections efficaces valables jusqu'à quelques eV. Les modèles collisionnels utilisés prennent mieux en compte les interactions dans l'eau car ils considèrent les molécules d'eau au lieu d'une simple combinaison d'atomes [Cham 12, Ivan 12]. De plus, cette extension inclut aussi des processus chimiques et permet la création d'espèces radicalaires par radiolyse de l'eau et leur transport [Kara 11]. La quantification des dommages à l'ADN devrait être aussi disponible prochainement pour les ions légers [Gala 12].

Pour nos applications par exemple, la classe *DNA* ne transportant que les électrons doit être combinée avec la physique de *Livermore* ou *PENELOPE* pour une simulation complète des interactions photons et électrons.

Pour les résultats présentés dans le troisième chapitre, la physique de *Livermore* a principalement été utilisée, mais une comparaison avec le modèle *Penelope* a aussi été faite. La partie chimique de *DNA* n'étant pas encore disponible durant la thèse, elle n'a pas pu être utilisée.

Comme dans le code *PENELOPE*, des limites de *pas* pour le transport des électrons doivent aussi être définis. Différentes méthodes permettent de jouer sur le détail de transport.

Un seuil de production des particules secondaires peut être défini dans la *PhysicsList*, à travers la fonction *SetCut*. Ce seuil est défini en termes de distance parcourue, c'est à dire que toutes les particules secondaires produites dont le parcours est inférieur à ce seuil ne sont pas transportées, leur énergie étant alors prise en compte dans la perte d'énergie continue de la particule incidente. L'énergie de seuil correspondante dépend donc du matériau. Dans nos simulations, un seuil de 1 nm a été fixé afin d'utiliser le seuil minimal pour le transport des particules.

Deux autres paramètres peuvent être utilisés, le *StepFunction* et le *StepLimiter*. Le premier agit sur le modèle de diffusion multiple des électrons et le deuxième doit être défini dans la *DetectorConstruction* pour chaque volume et chaque particule d'intérêt. Après plusieurs tests réalisés avec nos géométries, il s'est avéré cependant que ces trois limites pouvaient se recouper. Un seul seuil de production suffisamment bas semble permettre une bonne précision de transport, sans qu'une influence significative sur les résultats due aux deux autres limites n'aie été remarquée.

2.3.6.3 Avantages et limites de Geant4

Pour les objectifs de la thèse, Geant4 présente l'avantage majeur de comporter un outil puissant de géométrie, plus flexible par rapport à PENELOPE, permettant de simuler un grand nombre de nanoparticules d'éléments lourds à l'échelle cellulaire. La possibilité de récupérer un grand nombre d'informations à chaque pas de la particule est aussi un atout pour l'analyse potentielle de différentes observables, comme le type, le nombre et la position des interactions par exemple.

Cependant, le manque d'outils de réduction de variance adaptés à l'application des nanoparticules dans Geant4 a posé des problèmes importants pour obtenir une statistique suffisante sur les résultats. Les calculs effectués étant déjà très longs pour obtenir les résultats présentés dans le chapitre suivant, les incertitudes seront globalement de 3 à 10 fois supérieures à celles obtenues avec PENELOPE.

2.4 Bilan

Les bases de la physique d'interaction des électrons, photons et des transitions atomiques essentielles à la compréhension des résultats ont été décrites dans la première section 2.1. Dans un deuxième temps, les méthodes biologiques ont été détaillées en section 2.2, décrivant les expériences réalisées à l'ESRF pour la culture cellulaire, les tests de clonogénicité et la localisation des nanoparticules par imagerie. Enfin, la méthode de Monte Carlo et les deux codes principaux, PENELOPE et Geant4, utilisés pour le travail de simulation ont été expliqués et détaillés en section 2.3, le code PENELOPE restant la base principale du travail de thèse.

Le chapitre suivant présente les résultats obtenus à partir de ces méthodes, dans le but ultime de relier les effets biologiques liés à la présence de nanoparticules avec la physique décrite par simulation Monte Carlo. Cela passe par une étude paramétrique complète des effets physiques liés à l'irradiation des nanoparticules en termes de dose à l'échelle micrométrique, de spectres d'électrons secondaires produits et de type d'interaction, dans un but d'optimisation de la thérapie par photoactivation de nanoparticules lourdes.

Chapitre 3

Résultats : autour de la cellule

Sommaire

3.1 Introduction	87
3.2 Résultats expérimentaux	88
3.2.1 Contexte et présentation générale des résultats	88
3.2.2 Analyse des résultats obtenus en présence de Magnevist [®]	89
3.2.3 Analyse des résultats obtenus en présence de GdNP	91
3.2.4 Bilan des résultats expérimentaux	92
3.3 Simulation : cas du gadolinium homogène	92
3.3.1 Modèle géométrique unicellulaire	92
3.3.2 Comparaison des doses avec matériaux biologiques	94
3.3.3 Étude des doses moyennes	96
3.3.4 Étude des spectres d'électrons arrivant sur le noyau	103
3.3.5 Gadolinium homogène : ce que l'on peut en tirer	107
3.4 Simulation : étude de la forme du gadolinium	108
3.4.1 Prise en compte des nanoparticules à l'échelle cellulaire	108
3.4.2 Étude de l'hétérogénéité de la dose	113
3.4.3 Bilan quant à la prise en compte des nanoparticules	121
3.5 Bilan général de l'étude cellulaire	123

3.1 Introduction

Dans ce chapitre sont présentés les résultats d'une première étude de simulation Monte Carlo (MC) faite à l'échelle cellulaire afin de se rapprocher des conditions des expériences réalisées à l'ESRF. Lors de ces expériences, l'influence de la localisation et de la forme du gadolinium sur la survie cellulaire a été étudiée en fonction de l'énergie du faisceau. Pour prendre en compte les conditions d'incubation dans les simulations, la géométrie adoptée a porté sur une seule cellule compartimentée en trois secteurs : le cytoplasme, le noyau et la membrane.

Différentes quantités physiques ont été observées : la dose moyenne absorbée dans les trois parties de la cellule, l'hétérogénéité du dépôt de la dose et les spectres d'électrons produits. Il est bien évident que ce modèle n'a pas pour vocation de retrouver les

résultats d'efficacité biologique absolus, obtenus dans les expériences, car seule la physique est prise en compte ici. Ainsi, toutes les quantités comparées à l'expérience ont été étudiées en fonction d'un paramètre, l'énergie du faisceau, afin de faire ressortir des tendances plutôt que des valeurs absolues.

Dans un premier temps, les études ont été faites en assimilant les nanoparticules de gadolinium à un mélange homogène d'atomes de gadolinium et d'eau. Cela a permis d'étudier un grand nombre de conditions en gagnant un temps de calcul important par rapport à la simulation des nanostructures. Cette étude a ensuite été complétée en prenant en compte le gadolinium sous forme de nanoparticules, réparties aléatoirement ou en amas. La plupart des résultats présentés ont été calculés avec le code PENELOPE. Le code Geant4 a cependant été utilisé pour étudier l'influence du diamètre des nanoparticules à l'échelle cellulaire.

3.2 Résultats expérimentaux

La majorité des simulations de ce travail a été réalisée dans le but de trouver des corrélations entre des quantités physiques accessibles par MC avec les résultats de survie expérimentaux obtenus à l'ESRF.

3.2.1 Contexte et présentation générale des résultats

Les conditions expérimentales sont décrites en section 2.2.3.2. L'objectif était d'étudier l'influence de l'internalisation des nanoparticules de gadolinium (GdNP) sur la survie de cellules F98 pour différentes énergies de faisceau RX : cinq énergies basses obtenues au synchrotron de Grenoble et une énergie haute avec un irradiateur au cobalt 60. Ces expériences ont été faites en parallèle avec un produit de contraste à base de gadolinium utilisé habituellement pour l'IRM, le Magnevist[®], afin d'observer l'influence de la forme du gadolinium sur les résultats. Pour rappel, la concentration en gadolinium utilisée dans l'expérience est de 2,1 mg/ml que ce soit pour la solution de Magnevist[®] ou de GdNP. Dans le cas où les cellules sont incubées cinq heures avec les nanoparticules, les concentrations finales en gadolinium, mesurées par spectrométrie de masse, sont de 0,612 mg/ml dans la cellule et de 1,8 mg/ml dans le surnageant restant. Les résultats ont tous été normalisés par rapport à l'irradiation sans gadolinium et sont présentés en termes de SER_{4Gy} (cf. section 2.2.3.1).

La Figure 3.1 montre les résultats de SER_{4Gy} obtenus pour les quatre conditions : cellules *non-incubées* avec les GdNP (GdNP externes), cellules incubées avec les GdNP et rincées avant l'irradiation (GdNP internes) ou non-rincées avant irradiation (GdNP internes et externes), et cellules mélangées avec du Magnevist[®].

Les résultats montrent tous une tendance similaire en fonction de l'énergie du faisceau RX. Une augmentation nette de l'effet biologique apparaît pour les énergies supérieures à la couche atomique K du gadolinium (50,25 keV), en passant par un maximum à 65 keV puis une diminution aux plus hautes énergies (à partir de 80 keV).

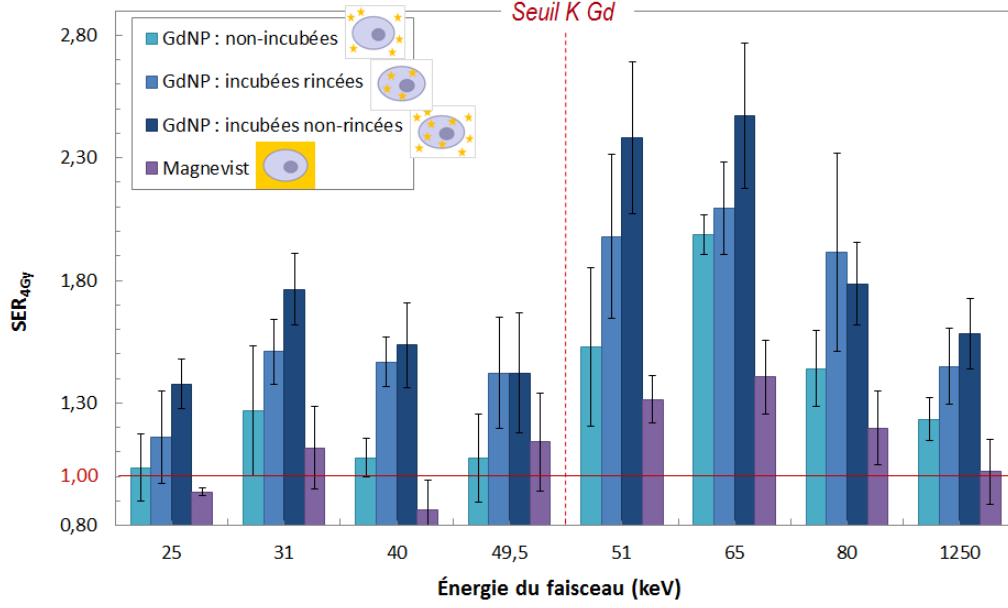


Figure 3.1: Résultats expérimentaux obtenus en termes de SER_{4Gy} en fonction de l'énergie d'irradiation pour quatre conditions : GdNP *non-incubées*, *incubées rincées*, *incubées non-rincées* et Magnevist[®].

Une telle tendance rappelle celle des rapports des coefficients d'absorption massique, laissant supposer qu'au moins une partie de l'effet observé est due à la photoactivation du gadolinium. En comparant les différentes conditions entre elles, nous observons cependant des disparités importantes en termes d'amplitude. Ces résultats sont commentés plus en détails dans les deux sections suivantes, en traitant séparément ceux obtenus avec le produit de contraste et ceux obtenus avec les nanoparticules.

3.2.2 Analyse des résultats obtenus en présence de Magnevist[®]

En premier lieu, nous constatons que le Magnevist[®] est moins efficace que les nanoparticules, qu'elles soient incubées avec les cellules ou non. Si l'on compare, par exemple, deux conditions équivalentes en termes de concentration en gadolinium et de localisation, le Magnevist[®] (violet) et les GdNP externes (bleu clair) : le maximum de SER_{4Gy} obtenu dans le premier cas est de $1,4 \pm 0,15$ à 65 keV contre $1,99 \pm 0,08$ pour le deuxième cas. Nous pouvons donc penser que l'objet « nanoparticule » ajoute un effet de radiosensibilité en plus de la photoactivation due à la présence d'élément lourd. Néanmoins, pour les autres énergies il est difficile de conclure à des différences significatives entre les résultats avec le Magnevist[®] ou les GdNP externes au vu des incertitudes, malgré une légère augmentation du SER_{4Gy} quasi-systématique dans le deuxième cas.

En guise de première comparaison, nous avons confronté les résultats expérimentaux en présence de Magnevist[®] avec l'augmentation de dose (DEF) calculée par simulation

Monte Carlo. Le DEF a été obtenu en calculant le rapport des doses absorbées, en présence ou non de gadolinium, dans un cube de 1 cm de côté. Dans le premier cas il s'agit d'un mélange d'eau et de gadolinium à une concentration de 2,1 mg/ml. Ce DEF correspond à une augmentation de dose que nous qualifions de « macroscopique », en comparaison aux doses qui seront calculées dans la suite à des échelles de l'ordre du micromètre ou du nanomètre. Les résultats sont montrés Figure 3.2.

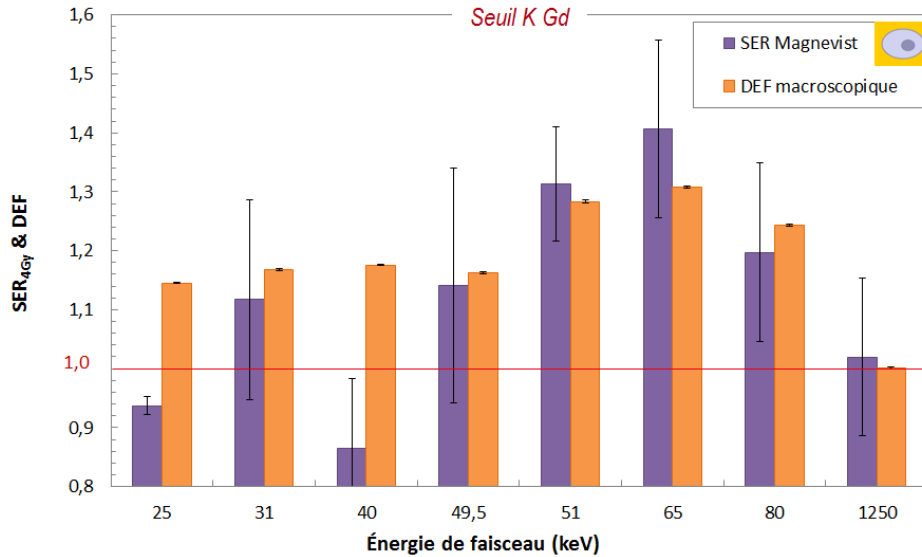


Figure 3.2: Comparaison du DEF macroscopique calculé par simulation MC et du SER_{4Gy} obtenu en présence de Magnevist[®].

Nous pouvons observer sur cette figure que les tendances de l'augmentation de dose (DEF) et de l'efficacité biologique (SER_{4Gy}) en fonction de l'énergie d'irradiation sont très semblables. En termes d'amplitude, à part pour les points à 25 et 40 keV, les différences observées entre les résultats physique et biologique ne sont pas significatives. De plus, aucun effet n'est observé à haute énergie au cobalt 60 comme cela est attendu physiquement d'après les rapports des coefficients d'absorption massique. Ces deux constatations supposent qu'il n'y a pas d'effet biologique intrinsèque au produit de contraste qui s'ajoute à l'effet physique global, à savoir, l'augmentation de la dose dans le milieu en présence de gadolinium. Nous avons utilisé le test statistique Anderson-Darling (cf. section 2.2.5) pour tester cette hypothèse, avec un risque d'erreur de 5 %. En comparant ces deux distributions, le test donne une *p-value* de 0,355. Ce résultat est supérieur à 0,05 et nous conforte donc dans l'idée que la photoactivation du gadolinium est bien le phénomène principalement responsable du SER_{4Gy} observé en présence de Magnevist[®].

Les différences les plus importantes sont observées à 25 et 40 keV. À 25 keV, l'interaction principale qui a lieu dans le gadolinium étant l'absorption photoélectrique en couche L, les électrons créés lors de ces interactions ont en moyenne une énergie de 7 keV. Cela correspond à un parcours dans la matière inférieur à 1,5 μm . Nous

pouvons conjecturer alors que la plupart des électrons produits dans le gadolinium n'atteindront pas les cellules et encore moins les cibles cellulaires critiques comme les noyaux cellulaires. Nous pourrions donc observer à 25 keV un effet d'écrantage du faisceau par le gadolinium, menant à un SER_{4Gy} inférieur à 1. En revanche, ces électrons contribuent au DEF macroscopique car toute l'énergie déposée est prise en compte dans le cube. Dans le cas du point à 40 keV cet effet ne devrait pas, ou peu, avoir lieu et il n'y a *a priori* aucune raison d'obtenir un résultat aussi différent des points qui l'encadrent, à 31 keV et 49,5 keV. Au vu des incertitudes associées à ces trois points, il se peut que les écarts observés soient dus à des problèmes expérimentaux.

3.2.3 Analyse des résultats obtenus en présence de GdNP

Concernant l'analyse des résultats obtenus en présence de GdNP, nous constatons tout d'abord que l'efficacité la plus importante est obtenue pour le cas des cellules *incubées non-rincées*, avec un SER_{4Gy} allant jusqu'à $2,47 \pm 0,3$ à 65 keV. En s'intéressant à la contribution des nanoparticules en fonction de leur localisation, il peut être remarqué que les GdNP incubées sont beaucoup plus efficaces que les externes. En effet, en ramenant les résultats à la quantité de gadolinium, les GdNP incubées semblent avoir un effet radiosensible environ quatre fois plus élevé que les GdNP externes. De plus, malgré l'absence d'effet physique attendu, l'irradiation au cobalt 60 a permis d'obtenir un facteur d'augmentation de la radiosensibilité cellulaire important dans le cas où les GdNP sont incubées avec les cellules, de $1,44 \pm 0,16$ pour le cas *incubées rincées* et de $1,58 \pm 0,15$ pour le cas *incubées non-rincées*. Il est évident ici que la photoactivation du gadolinium ne suffit pas à expliquer une telle augmentation. Il se pourrait que les GdNP aient une action biologique sur les cellules, les rendant plus sensibles aux rayonnements quelle que soit l'énergie utilisée. Cet effet s'additionne à l'effet de base de photoactivation du gadolinium observé dans le cas du Magnevist®.

Florence Taupin a étudié plus en détail cet effet durant sa thèse et a notamment observé, par cytométrie de flux, le cycle des cellules F98 avant et après incubation avec les GdNP (réalisé au Centre de Recherche du Service de Santé des Armées à Grenoble). Elle démontre dans cette étude que les cellules incubées subissent un arrêt de la prolifération après 5 h d'incubation. Elle montre aussi qu'une accumulation importante des cellules peut être observée en phase G2/M après 24 h d'incubation (de 57 % par rapport aux contrôles). Cette phase du cycle correspond au moment où l'ADN est le plus compact et où les conditions sont les moins propices à la réparation des dommages. Des études ont montré des corrélations entre l'accumulation des cellules dans cette phase et leur radiosensibilité [Tera 63, Sinc 68, Sinc 72]. Il se pourrait donc que, dans le cas où les GdNP sont incubées avec les cellules, une partie de l'effet biologique observé dans notre étude soit due à cette accumulation des cellules dans une phase spécifique du cycle.

Une autre hypothèse qui pourrait s'ajouter à ces deux effets concerne l'éventuelle existence d'un effet physique local, à l'échelle de la nanoparticule, causé par la forte

concentration d'atomes lourds au sein de la cellule et potentiellement proche de cibles cellulaires critiques (ADN, protéines, membrane, etc.). Ces nanoparticules lorsqu'elles sont irradiées, pourraient être responsables de créations de « points chauds » dans la dose déposée. De telles augmentations locales pourraient s'avérer plus toxiques pour la cellule que la simple augmentation de dose absorbée sur l'ensemble de l'objet. Cette hypothèse n'explique néanmoins pas l'augmentation de la radiosensibilité observée à haute énergie, quelle que soit la localisation des nanoparticules.

3.2.4 Bilan des résultats expérimentaux

Nous avons présenté dans cette partie les résultats expérimentaux de survie de cellules F98 en présence de gadolinium, sous irradiation synchrotron et cobalt 60. Nous nous sommes intéressés à un facteur d'augmentation de la radiosensibilité cellulaire, le SER_{4Gy} , afin d'étudier la réponse en fonction de l'énergie du faisceau d'irradiation. Les résultats obtenus avec du Magnevist[®] et ceux obtenus avec des GdNP ont mis en évidence des comportements différents.

Le Magnevist[®] est un produit de contraste, utilisé en IRM, qui reste dans le milieu extra-cellulaire. Il a été montré, dans la partie 3.2.2, que les résultats de SER_{4Gy} pouvaient être expliqués en majeure partie par le DEF calculé dans un cube de 1 cm de côté, aux incertitudes statistiques près. Ce résultat suppose qu'il n'y a pas d'effet biologique qui se rajoute à la photoactivation physique du gadolinium lorsque l'on irradie des cellules en présence de Magnevist[®].

En présence de GdNP les conclusions sont différentes. Les résultats de SER_{4Gy} obtenus en présence de GdNP montaient jusqu'à un facteur $2,47 \pm 0,3$ à 65 keV, contre seulement $1,4 \pm 0,15$ dans le cas du Magnevist[®]. Il a été montré dans la partie 3.2.3 que les cellules incubées 5 h avec les GdNP étaient les plus radiosensibles. Il apparaît donc clair qu'un effet, autre que la simple photoactivation du gadolinium, augmente la radiosensibilité des cellules lorsque celles-ci sont incubées. Deux hypothèses ont été avancées. Une première concerne l'influence biologique des GdNP sur le cycle cellulaire. Florence Taupin a montré une accumulation des cellules incubées dans la phase G2/M du cycle, cette phase étant connue pour augmenter la sensibilité aux rayonnements. Une autre hypothèse concerne l'effet potentiel d'une augmentation de dose importante à proximité des GdNP.

Ce dernier point a été étudié plus particulièrement : dans ce chapitre, l'interaction des rayonnements avec le gadolinium a été modélisée à l'échelle de la cellule, puis à l'échelle de la nanoparticule dans le chapitre suivant 4.

3.3 Simulation : cas du gadolinium homogène

3.3.1 Modèle géométrique unicellulaire

La géométrie réalisée avec le code PENELOPE est représentée en Figure 3.3. Il s'agit d'un modèle simple utilisé pour étudier les effets d'échelle dus à la localisation du gadolinium au sein de la cellule. Ce modèle comprend une cellule sphérique de

10 micromètres de diamètre (diamètre moyen d'une cellule F98), composée d'un cytoplasme, d'un noyau centré de 4 micromètres et d'une membrane d'épaisseur 7,5 nanomètres. Par souci d'homogénéité, les doses étudiées dans la suite pour les trois parties cellulaires seront présentées avec les mêmes couleurs que sur cette figure.

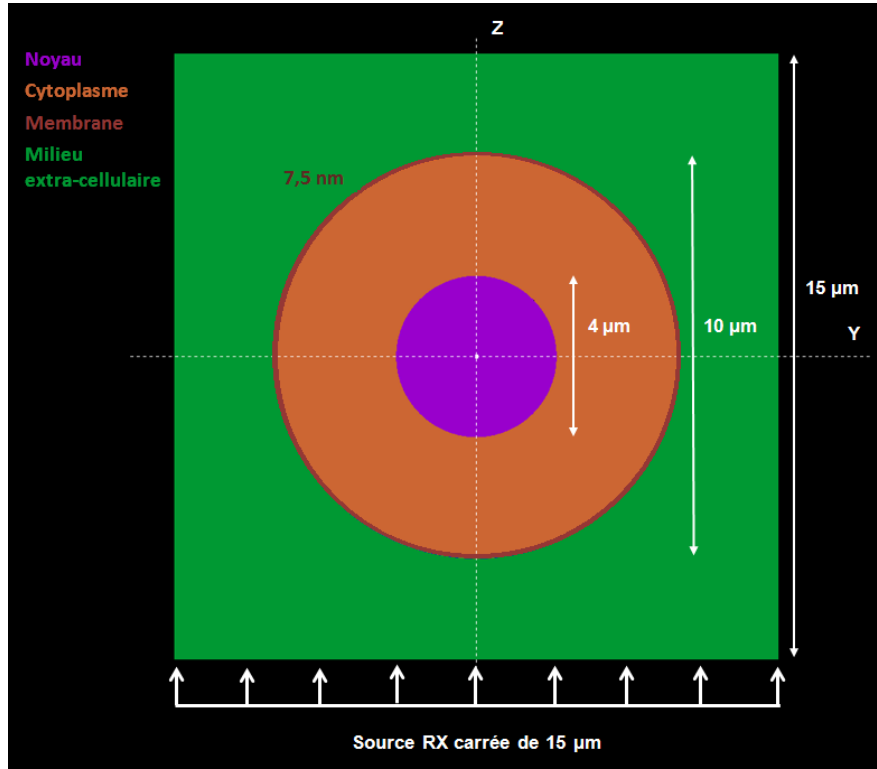


Figure 3.3: Représentation dans le plan YZ de la géométrie unicellulaire utilisée, pour les calculs de dose et de spectres d'électrons, dans le cas du gadolinium distribué de façon homogène (PENELOPE).

Dans les conditions de l'expérience, les cellules sont irradiées en suspension dans une solution. Elles se retrouvent donc très éloignées les unes des autres au moment de l'irradiation et peuvent être considérées individuellement. De ce fait, le modèle unicellulaire est bien adapté à la problématique. La taille du noyau a été choisie à partir de la publication de Jorgensen et al [Jorg 07] dans laquelle est indiqué qu'en moyenne, le volume du noyau occupe environ 7 % de celui de la cellule. Dans notre cas le rapport entre le volume du noyau et de la cellule est de 6,4 %. La cellule est intégrée dans un cube de 15 µm de côté, représentant le milieu extra-cellulaire. Cette taille de milieu, relativement restreinte, a été choisie afin de limiter le nombre de volumes à modéliser pour les résultats considérant la forme des nanoparticules.

Toutes les parties de la cellule sont composées d'eau dans les simulations (ce point est discuté plus en détail dans le paragraphe 3.3.2). Les études ont porté sur les conditions expérimentales en termes de concentration en gadolinium, de localisation du ga-

dolinium et des énergies de faisceau utilisées. Nous avons comparé les doses moyennes absorbées dans chacune des parties de la cellule et les spectres d'électrons arrivant sur le noyau cellulaire dans les trois cas de localisation du gadolinium : cas des cellules *incubées et rincées*, *non-rincées* et *non-incubées*. Pour le cas *incubées et rincées*, la partie cytoplasme (orange sur la Figure 3.3) a été remplie d'un mélange homogène gadolinium-eau avec une concentration massique en gadolinium de 0,612 mg/ml, les autres régions étant remplies d'eau. Il s'agit d'une approximation par rapport à la localisation réelle des nanoparticules incubées avec les cellules (cf. section 2.2.2). Dans le cas *incubées non-rincées*, un mélange de gadolinium à 1,8 mg/ml a été ajouté dans le milieu extra-cellulaire (vert sur la figure). Dans le cas *non-incubées*, seul le milieu extra-cellulaire est rempli d'un mélange de gadolinium à 2,1 mg/ml. Les énergies étudiées sont celles des expériences, auxquelles nous avons ajouté trois points, à 35, 58 et 120 keV, afin de préciser les tendances.

La source d'irradiation est une source surfacique carrée, de dimension égale au cube extra-cellulaire (15 μm de côté) émettant un faisceau de rayons X non-divergent selon l'axe Z. Elle est positionnée 100 nm devant le cube. Les photons sont monochromatiques, sauf dans le cas du cobalt 60 où nous avons utilisé les 2 raies principales (1,17 et 1,33 MeV). Cette approximation est suffisante pour représenter le faisceau synchrotron puisque la largeur du spectre est de l'ordre du millièème de l'énergie de faisceau avec les monochromateurs utilisés pour ces expériences.

3.3.2 Comparaison des doses avec matériaux biologiques

L'assimilation des matériaux constituant la cellule à de l'eau est une approximation qui induit des erreurs sur le calcul de la dose par rapport à la prise en compte de matériaux plus réalistes. Malheureusement, les données physiques de composition chimique moyenne ou de densité manquent pour réaliser une telle comparaison, à cause de la complexité et de l'hétérogénéité des composites d'une cellule. Quelques publications ont porté sur cette problématique. Des travaux réalisés par Incerti *et al.* en 2009 [Ince 09] et Barberet *et al.* en 2012 [Barb 12] ont permis de fournir des données de composition chimique dans le cytoplasme et le noyau de cellules (lignée HaCaT) à partir de mesures faites avec un micro-faisceau de protons à Bordeaux. Les résultats de ces deux publications présentent quelques différences, allant jusqu'à 10 % d'écart par exemple pour la quantité massique d'hydrogène qui compose le noyau. Une troisième étude de Douglass *et al.* [Doug 12], portant sur la modélisation d'amas cellulaires réalistes en trois dimensions, fournit des données de compositions massiques par élément très éloignées des deux précédentes. Par exemple, un écart de 40 % est noté par rapport à Incerti *et al.* pour la quantité massique d'hydrogène dans le cytoplasme. Les informations sur les densités moyennes des composites de la cellule se font encore plus rares.

Nous avons cependant réalisé une comparaison à titre indicatif entre les doses dans l'eau et celles obtenues à partir des données de publications. Les valeurs de Incerti *et al.* [Ince 09] ont été utilisées pour la composition chimique brute du cytoplasme et

du noyau. La membrane a été assimilée à une couche phospholipidique [Doug 12]. Les densités sont considérées équivalentes à celle de l'eau. Les pourcentages massiques utilisés, en ne considérant que les cinq éléments principaux (H, C, N, O et P), peuvent être trouvés en Table 3.1.

Table 3.1: Pourcentages massiques utilisés pour la composition chimique brute du noyau, du cytoplasme et de la membrane [Ince 09, Doug 12].

Elément	Noyau (%)	Cytoplasme (%)	Membrane (%)
H	21,96	22,09	9,28
C	12,35	13,14	55,31
N	2,14	1,30	2,87
O	62,90	62,98	26,20
P	0,65	0,49	6,34

Les résultats des doses moyennes obtenues avec ces compositions chimiques et avec de l'eau peuvent être trouvés en Figure 3.4.

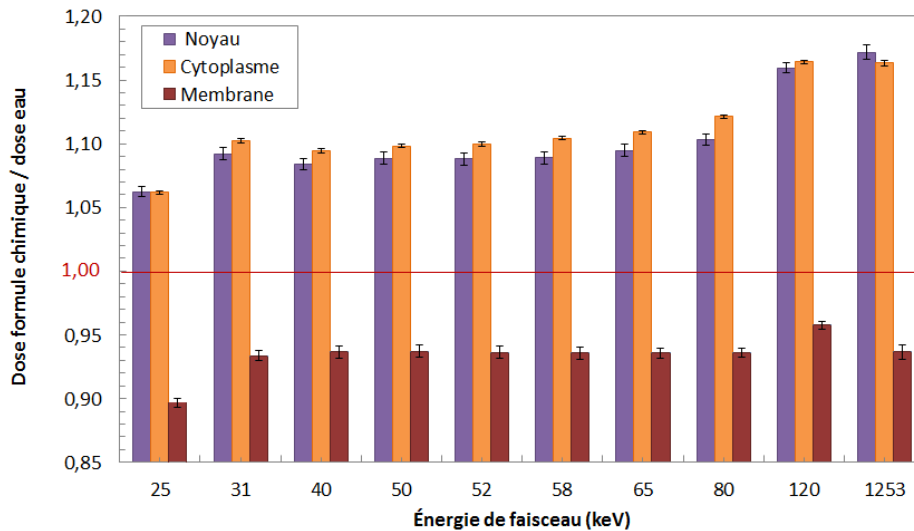


Figure 3.4: Comparaison des résultats de doses moyennes obtenues dans le noyau, le cytoplasme et la membrane du modèle cellulaire, dans le cas où ils sont remplis d'eau ou de compositions chimiques plus réalistes [Ince 09].

Nous pouvons voir que la prise en compte de matériaux plus réalistes pour le noyau et le cytoplasme donne des résultats en dose de 6 à 17 % plus importants que pour l'eau. Pour la membrane au contraire nous observons une diminution de la dose jusqu'à 10 %. Ce dernier résultat devrait certainement être réévalué à la hausse si l'on prenait en compte les différentes protéines aussi présentes sur la membrane. Malgré les incertitudes liées au choix de ces données, nous pouvons toutefois remarquer que

l'erreur sur la dose absorbée due à l'utilisation de l'eau est relativement importante. Une étude approfondie de la prise en compte de matériaux biologiques plus réalistes constituerait une perspective intéressante.

Ce point n'est cependant pas critique pour notre étude car l'objectif est d'observer l'effet des éléments lourds dans un milieu, dans lequel ils sont présents ou non. Les résultats sont donc normalisés par rapport à une référence. Que cette référence soit l'eau ou un autre matériau ne devrait pas modifier les facteurs d'augmentation obtenus dans nos simulations.

3.3.3 Étude des doses moyennes

3.3.3.1 En fonction de la localisation du gadolinium

Dans cette étude, les parties de la cellule sont donc remplies d'eau ou d'un mélange de gadolinium et d'eau comme cela a été décrit précédemment. Les doses moyennes ont été calculées en présence de gadolinium et normalisées par rapport à celles calculées sans gadolinium. Cela a permis d'observer des facteurs d'augmentation de dose dépendant de la cible (noyau, cytoplasme ou membrane) et de la localisation du gadolinium. Les DEF obtenus sont présentés sous forme d'histogrammes, avec les dégradés de couleurs représentant le cas des cellules *incubées et rincées* (Gd interne), *non-incubées* (Gd externe) et *incubées non-rincées* (Gd interne et externe) (cf. Figure 3.5).

Premièrement, nous pouvons remarquer que les amplitudes des DEF obtenus sont très petites, restant dans tous les cas inférieures à 1,2. Ensuite, en observant les tendances des histogrammes pour chacune des parties de la cellule, nous remarquons qu'elles diffèrent principalement après le seuil K du gadolinium (50,25 keV). Nous voyons surtout apparaître ici l'effet des dimensions des différents volumes en fonction de l'énergie des particules produites. Globalement, la condition du gadolinium interne est celle qui engendre le DEF le plus faible, à cause de la concentration en gadolinium environ trois fois moindre que pour les deux autres conditions. Le DEF maximum est obtenu au niveau du cytoplasme, à 31 keV, et vaut $1,17 \pm 0,001$ dans le cas du gadolinium présent à la fois à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule. Les DEF obtenus à haute énergie (120 keV et cobalt 60) sont dans tous les cas égaux ou inférieurs à 1 et seront peu commentés dans la suite.

Si on s'intéresse pour commencer à l'augmentation de dose obtenue au noyau, nous pouvons remarquer qu'une dissymétrie importante apparaît en faveur des énergies inférieures au seuil K du gadolinium. Cela est dû aux photo-électrons produits principalement en couche L qui peuvent parcourir de l'ordre de la dizaine de micromètres (cf. annexe A.1.2 et Figure 2.7). Ainsi le milieu externe, plus concentré en gadolinium, contribue plus au DEF que celui présent dans le cytoplasme (visible pour les énergies de 31 à 40 keV). Pour les énergies après le seuil K, les différences sont très peu marquées entre les trois conditions. Les électrons issus du gadolinium étant principalement pro-

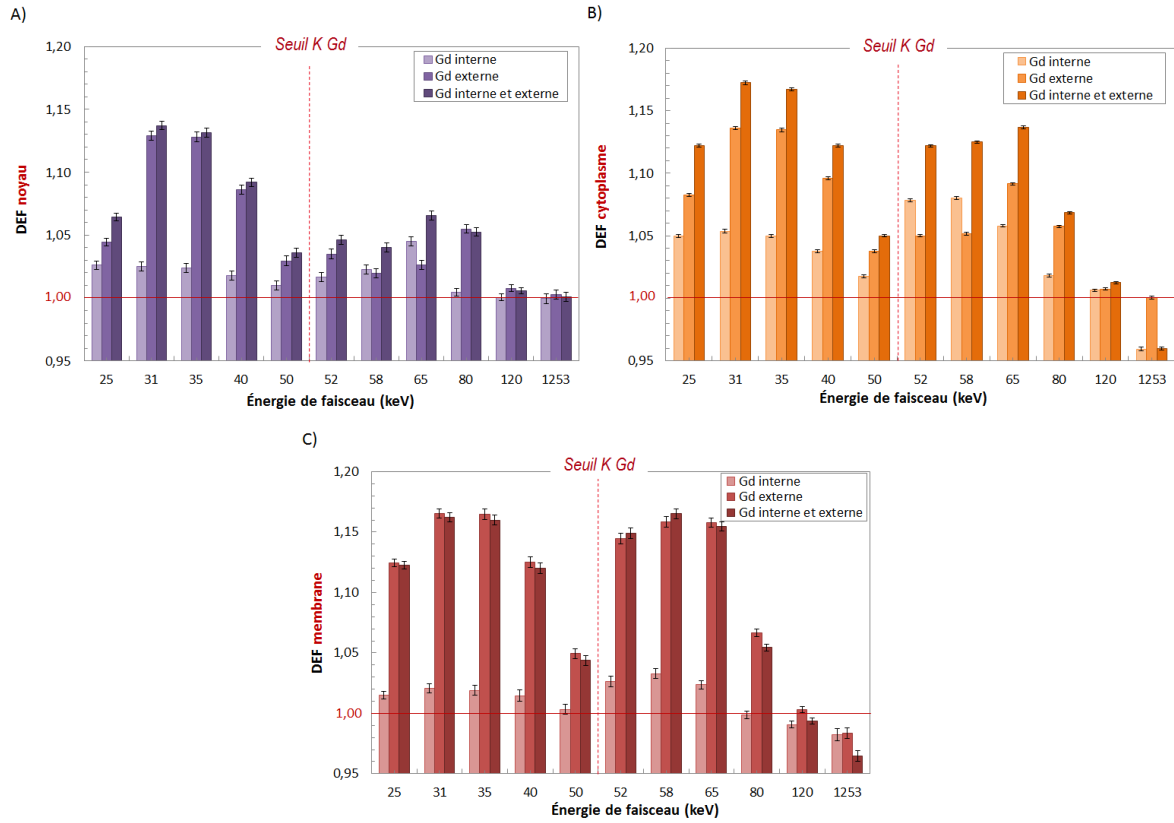


Figure 3.5: Comparaison des DEF obtenus dans le noyau (A), le cytoplasme (B) et la membrane (C) pour les trois conditions de localisation du gadolinium : interne, externe et les deux à la fois.

duits par absorption photoélectrique en couche K, ils sont donc d'énergie relativement faible, inférieure à 15 keV. Leur parcours restant inférieur à quelques micromètres, la plupart des électrons créés dans le milieu externe sont absorbés avant d'atteindre le noyau. L'effet principal au niveau du noyau est donc dû au gadolinium présent dans le cytoplasme.

Une dissymétrie due au gadolinium externe peut aussi être observée dans le cas du DEF au cytoplasme, avec un effet plus important pour les énergies inférieures au seuil K. Le gadolinium interne contribue plus à la dose absorbée dans le cytoplasme que dans la membrane ou le noyau car tous les électrons produits déposent au moins une partie de leur énergie autour du lieu d'interaction. Cela est particulièrement visible juste après le seuil K (à 52 et 58 keV). Les photo-électrons K produits, dans le cas *incubées rincées*, sont absorbés sur place et contribuent encore plus à la dose que les interactions extracellulaires, malgré la différence de concentration. Pour toutes les énergies, la condition *incubées non-rincées* est dominante, indiquant une contribution des effets provenant de chaque zone de présence du gadolinium.

Au contraire, dans le cas du DEF à la membrane, nous pouvons remarquer que c'est principalement le gadolinium présent à l'extérieur de la cellule qui influe, en accord avec

les concentrations plus élevées dans cette zone. Les conditions *incubées non-rincées* et *non-incubées* donnent ici des résultats identiques. Les énergies en dessous et au dessus du seuil K contribuent cette fois de manière presque égale, marquant une symétrie du DEF par rapport à l'énergie de ce seuil.

Les cibles pouvant être responsables de la mort cellulaire étant variées, il est probable que les effets réels qui ont lieu ne sont pas restreints à une zone de la cellule mais à une combinaison des effets au niveau des trois parties étudiées dans ce paragraphe.

Afin d'interpréter ces tendances par rapport aux résultats expérimentaux, nous avons confronté les résultats calculés du DEF avec les résultats de SER_{4Gy} obtenus expérimentalement. Dans un premier temps, nous comparons le SER_{4Gy} mesuré en présence de Magnevist[®], avec le DEF calculé dans le cas du gadolinium présent à l'extérieur de la cellule. Le cas du Magnevist[®] est en effet le plus proche des conditions simulées dans cette partie car le gadolinium est distribué de façon homogène. La Figure 3.6 permet de visualiser les données calculées pour le noyau, le cytoplasme et la membrane (3.6-A) et les données mesurées (3.6-B), avec une même échelle en ordonnée pour les deux graphiques.

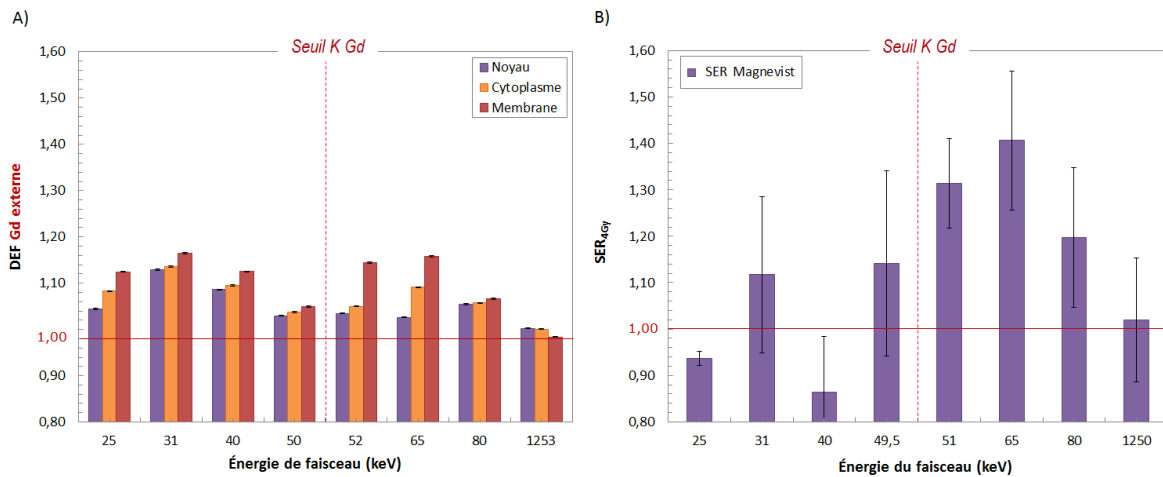


Figure 3.6: Comparaison des DEF obtenus (noyau, cytoplasme et membrane) dans le cas du gadolinium externe (A) avec le SER_{4Gy} mesuré en présence de Magnevist[®] (B).

Nous pouvons remarquer que les facteurs d'augmentation calculés et mesurés expérimentalement sont du même ordre de grandeur ($p\text{-value} > 0,05$ avec le test d'Anderson-Darling). Les résultats de DEF sont néanmoins plus faibles que le SER_{4Gy} , notamment après le seuil K du gadolinium, le maximum obtenu dans le premier cas étant de $1,17 \pm 0,004$ contre $1,41 \pm 0,15$ pour le SER_{4Gy} . Ces amplitudes de DEF, calculées à l'échelle du micromètre, sont globalement plus faibles que celles calculées avec le DEF macroscopique (présentées en Figure 3.2). Par ailleurs, nous voyons que le SER_{4Gy} est plus proche du DEF calculé au cytoplasme et à la membrane que du DEF au noyau. Cela est dû à la distance moyenne plus importante que doivent parcourir les électrons,

produits après interaction avec le gadolinium externe, avant d’atteindre le noyau. Il faut remarquer néanmoins que la géométrie prise en compte dans nos simulations reste une approximation du fait de sa symétrie sphérique. Dans la réalité, le noyau cellulaire n’est pas forcément centré dans la cellule et peut se retrouver plus proche de la membrane que dans notre simulation.

En s’intéressant aux tendances des deux graphiques au lieu des valeurs absolues, nous pouvons séparer l’analyse en deux parties : avant et après le seuil K du gadolinium. Nous voyons que les maximums locaux des DEF sont bien retrouvés à 31 et 65 keV, comme pour le SER_{4Gy} , avec des tendances relatives similaires pour les énergies autour de ces maxima. En revanche, en observant les résultats en dessous du seuil K relativement à ceux au dessus, nous voyons clairement que les tendances ne sont pas en bon accord entre les deux graphiques. Le DEF prédit un effet plus important pour les énergies en dessous du seuil K (surtout pour le cytoplasme et le noyau) alors que le SER_{4Gy} montre une augmentation importante de la radiosensibilité au passage de ce seuil. Il semble qu’il manque à ce modèle cellulaire l’information d’une contribution importante qui a lieu pour les plus hautes énergies lors des interactions en couche K. Il est possible que la restriction du volume extra-cellulaire à une taille de $15\ \mu m$ puisse jouer un rôle dans la tendance observée. En augmentant le volume chargé en élément lourd, une part de la contribution des électrons de plus haute énergie pourrait être récupérée. Une étude visant à déterminer le biais induit par cette géométrie est décrite dans la section 3.3.3.2, montrant l’influence de la taille du milieu extra-cellulaire sur le calcul du DEF.

Dans un deuxième temps, nous avons comparé les tendances obtenues pour les différentes conditions d’incubation, avec les DEF calculés, présentés en Figure 3.7-A, et les résultats de SER_{4Gy} obtenus en présence de GdNP, présentés en Figure 3.7-B. Seuls les DEF calculés au cytoplasme sont représentés ici pour une question de lisibilité. Pour le DEF (Figure 3.7-A), les deux premières conditions ont été interverties par rapport à la Figure 3.5-B de manière à suivre l’ordre de présentation des SER_{4Gy} : cas *non-incubées*, *incubées rincées* et *incubées non-rincées*. Les deux figures ne sont pas à la même échelle afin de pouvoir observer les différences entre les DEF.

Les tendances observées des DEF sont similaires à celles discutées précédemment autour de la Figure 3.6, menant à la conclusion qu’il manque une contribution des énergies supérieures au seuil K du gadolinium par rapport au SER_{4Gy} . Par ailleurs, nous remarquons que l’amplitude des facteurs d’augmentation n’est pas comparable entre le calcul et l’expérience, avec un maximum à $1,17 \pm 0,003$ dans le premier cas contre $2,47 \pm 0,3$ dans le deuxième. Les effets du gadolinium interne sont notamment bien plus importants expérimentalement, relativement aux effets du gadolinium externe, malgré la plus faible concentration. En terme de DEF au contraire, le gadolinium externe a une plus grande influence car il est présent en plus grande quantité. Ces différences sont probablement dues aux effets biologiques et locaux des nanoparticules, déjà discutés en section 3.2.3. Le test d’Anderson-Darling, appliqué au DEF et au SER dans le cas des cellules *incubées non-rincées* (gadolinium interne et

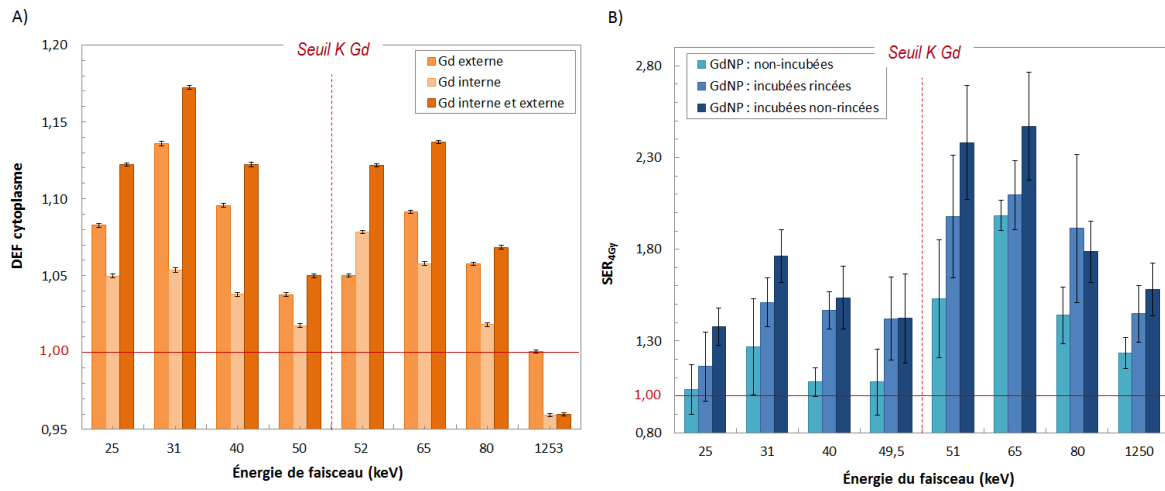


Figure 3.7: Comparaison des DEF obtenus dans le cytoplasme (A) avec le SER_{4Gy} (B) mesuré en présence de GdNP pour les trois conditions de localisation du gadolinium : *non-incubées*, *incubées rincées* et *incubées non-rincées*.

externe), donne une *p-value* de 0,0003. Cette valeur, largement plus petite que 0,05, confirme que ces deux résultats ne sont pas régis par la même loi.

Si nous faisons l'hypothèse qu'une part de l'effet biologique des nanoparticules incubées est due aux électrons de haut TEL, produits lors d'une ionisation K, il est possible que cette part ne soit pas visible avec la géométrie cellulaire étudiée car elle pourrait être diluée dans le volume. Pour observer l'influence de ces électrons il faudrait descendre à une échelle de détail plus fine, de l'ordre du nanomètre au lieu du micromètre. Ce point a été étudié et fait l'objet du chapitre 4. De plus, en comparant les SER_{4Gy} obtenus pour le Magnevist[®] par rapport à ceux obtenus pour les GdNP non-incubées, nous voyons que les résultats sont plus importants dans le deuxième cas. Par exemple, le maximum de SER_{4Gy} obtenu en présence de Magnevist[®] est de $1,4 \pm 0,15$ à 65 keV contre $1,99 \pm 0,08$ pour celui obtenu en présence de GdNP. Cela suggère une action liée à l'objet « nanoparticule » autre que l'effet biologique des GdNP incubées. En plus de l'étude locale présentée dans le chapitre 4, nous avons étudié l'influence de la forme du gadolinium (homogène ou nanoparticules) à l'échelle cellulaire. Cela fait l'objet de la partie 3.4.1.2.

3.3.3.2 Influence de la taille du volume d'irradiation

Nous présentons dans cette partie, l'étude réalisée pour déterminer l'influence de la taille du milieu extra-cellulaire sur les doses moyennes calculées, le but étant d'obtenir une valeur de saturation pour laquelle l'ajout de matière ne contribue plus à la dose au niveau de la cellule. Le milieu externe est sphérique dans ce cas et, de la même façon que précédemment, la source surfacique est placée avant le milieu et de même taille, mais cette fois de forme circulaire. Le nombre de photons primaires a été choisi de

manière à ce que la cellule soit traversée par un même nombre de photons ($4,4 \cdot 10^7$ ph) quelle que soit la taille de la source. L'étude a été faite à 80 keV afin de considérer les électrons de plus haute énergie pouvant contribuer à la dose à la cellule dans le cas des énergies synchrotron. Un électron de 80 keV pouvant parcourir environ $100 \mu\text{m}$ dans l'eau, la taille maximale du volume extra-cellulaire a été choisie à $110 \mu\text{m}$, pour une étude de 11 diamètres de $15 \mu\text{m}$ à cette taille maximale. Pour effectuer la comparaison le choix a porté sur une seule condition, *incubées non-rincées*, qui donnait les facteurs d'augmentation les plus importants. Les DEF moyens obtenus pour les trois parties de la cellule sont présentés sur un même graphique en fonction du diamètre du milieu extra-cellulaire et peuvent être trouvés en Figure 3.8.

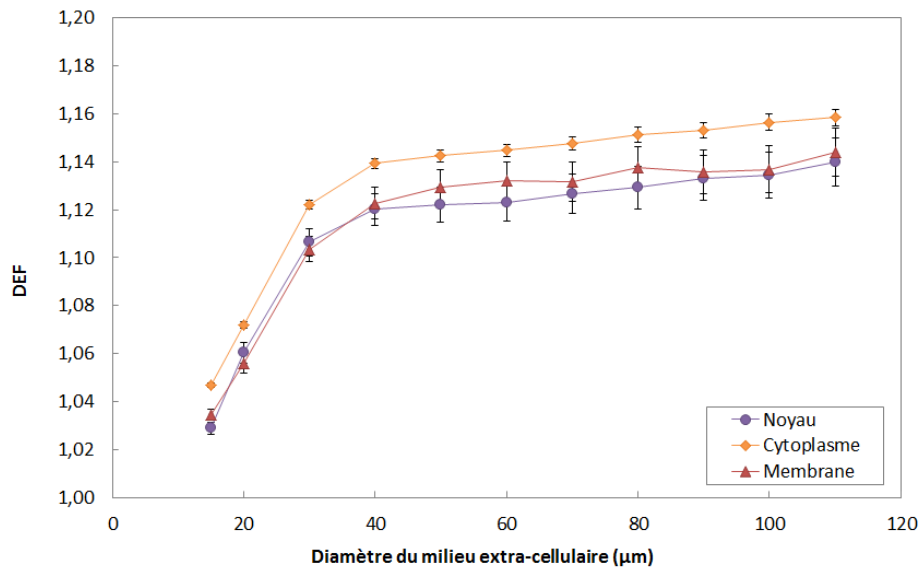


Figure 3.8: Comparaison des DEF obtenus au noyau, au cytoplasme et à la membrane en fonction de la taille du volume d'irradiation. Cas des cellules *incubées non-rincées*.

Quelle que soit la partie de la cellule, nous obtenons une augmentation similaire du DEF en fonction de la taille du milieu extra-cellulaire. Cette constatation confirme l'existence d'un biais dû à la restriction du volume à $15 \mu\text{m}$ et à la non prise en compte d'une partie de la contribution des électrons de plus haute énergie. L'augmentation du DEF est rapide jusqu'à une taille de $40 \mu\text{m}$ (augmentation d'environ 8,5 %), puis plus lente au delà (augmentation d'environ 2 % de 40 à $110 \mu\text{m}$). La saturation observée semble indiquer que la contribution principale à la dose cellulaire est due aux interactions avec le gadolinium dans un rayon de $20 \mu\text{m}$ pour un faisceau de 80 keV.

Nous avons ensuite utilisé la géométrie à $40 \mu\text{m}$ pour comparer le DEF moyen en fonction de l'énergie de faisceau par rapport aux résultats à $15 \mu\text{m}$. Le résultat de la comparaison peut être trouvé en Figure 3.9.

Les DEF obtenus avec le volume de $40 \mu\text{m}$ semblent mieux s'accorder avec le $\text{SER}_{4\text{Gy}}$ que les résultats de DEF à $15 \mu\text{m}$ (cf. Figure 3.7). En effet, par rapport au seuil K

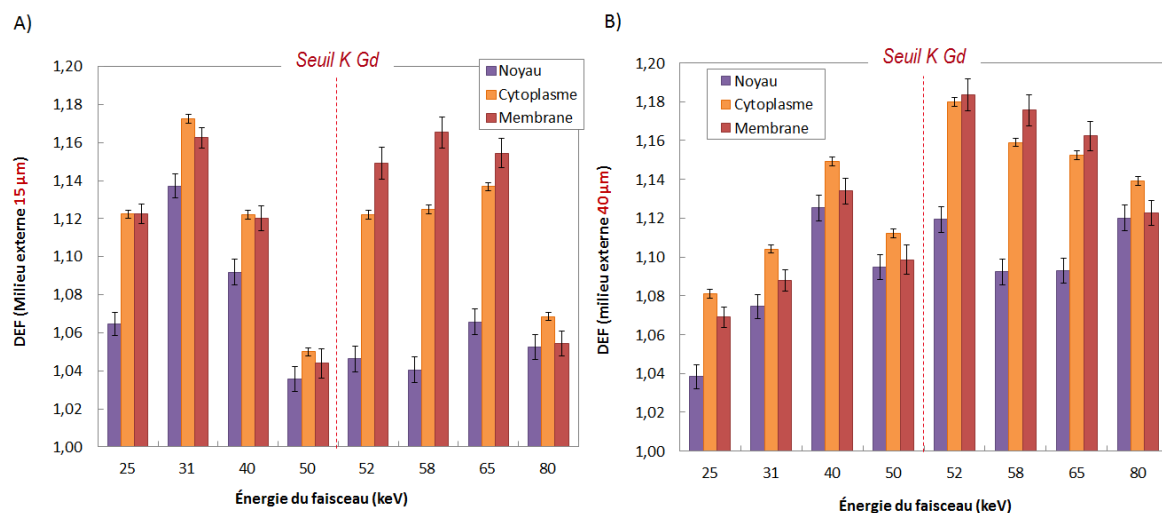


Figure 3.9: Comparaison des DEF obtenus au noyau, cytoplasme et membrane en fonction de l'énergie de faisceau, pour un milieu extra-cellulaire de taille 15 μm (A) et 40 μm (B).

du gadolinium les DEF obtenus à 40 μm pour les énergies au dessus de ce seuil sont globalement plus importants que ceux obtenus en dessous du seuil, conformément à ce qui est observé pour le $\text{SER}_{4\text{Gy}}$. Cela est dû à la diminution de la contribution des électrons de basse énergie produits, qui sont en partie absorbés dans le milieu externe plus épais avant de pouvoir atteindre la cellule. Cet effet est visible principalement à 25 et 31 keV, pour lesquels tout le spectre d'électrons est relativement bas. De plus, nous observons une diminution des écarts entre les différentes parties de la cellule pour les énergies au delà du seuil K. Cela pourrait indiquer que le spectre d'électrons atteignant la cellule est durci (d'énergie moyenne plus importante), par rapport au volume de 15 μm , et qu'ils peuvent plus facilement atteindre les cibles profondes. Pour les énergies de 40, 50 et 80 keV, nous observons une augmentation importante des DEF. Dans ces trois cas, l'énergie moyenne des électrons issus des interactions photoélectriques est relativement haute (de 30 à 40 keV). Ces électrons peuvent donc contribuer à augmenter la dose au niveau de la cellule en étant moins atténués que pour les autres énergies de faisceau. Ces aspects ont cependant pour conséquence de décaler les maximums locaux. Ils sont trouvés pour les énergies de 40 et 52 keV avec le milieu de 40 μm alors qu'ils sont à 31 keV et 65 keV pour les résultats expérimentaux et le calcul avec le milieu de 15 μm . Le modèle avec le plus grand volume d'irradiation devrait pourtant être le plus réaliste compte tenu du système expérimental. L'explication de la position des maxima reste floue à partir de ces résultats.

En vérifiant la valeur du test statistique, entre cette fois le DEF à 40 μm et le SER dans le cas *incubées non-rincées*, la valeur obtenue est de 0,001. Cette valeur est plus grande que celle calculée à 15 μm (0,0003) mais reste néanmoins très inférieure à 0,05. Il semble donc que le modèle du DEF à 40 μm soit un peu meilleur mais qu'il n'est pas suffisant pour retrouver le $\text{SER}_{4\text{Gy}}$. Il est important de rappeler ici que l'influence biologique intrinsèque aux GdNP n'est pas prise en compte dans ce modèle

de simulation purement physique, ni la forme des nanoparticules, d'où la difficulté de comparer les valeurs absolues.

Dans la majorité des études à l'échelle cellulaire, le milieu de $15\ \mu\text{m}$ a néanmoins été conservé afin de gagner un temps de calcul considérable. En effet, pour obtenir le même ordre de précision statistique au niveau de la cellule, 7 fois plus de photons primaires doivent être tirés avec le volume de $40\ \mu\text{m}$. Cela correspond à un temps de calcul environ trois fois plus élevé que pour $15\ \mu\text{m}$. Le problème du temps de calcul devient critique lors de la prise en compte des nanoparticules de gadolinium (cf. partie 3.4.2). Le nombre de volumes à simuler pourrait, en effet, monter jusqu'à 20 millions pour des GdNP de 10 nm de diamètre. Dans un tel cas, le calcul de la dose pour une seule énergie de faisceau nécessiterait plusieurs semaines de calcul sur un processeur. L'étude relative à la comparaison des GdNP de différentes tailles est décrite en section 3.4.1.

La dose absorbée est un bon indicateur des effets physiques moyens qui peuvent avoir lieu en présence de gadolinium et est une grandeur largement utilisée dans le domaine. Cependant, cette grandeur ne semble pas suffisante pour expliquer les résultats obtenus expérimentalement. En complément de cette étude dosimétrique, nous nous sommes intéressés à une autre observable physique : les spectres électroniques.

3.3.4 Étude des spectres d'électrons arrivant sur le noyau

Les électrons de haut TEL sont supposés être la cause d'un fort impact radiobiologique. Nous avons donc exploité cette même géométrie cellulaire (cf. Figure 3.3) afin d'étudier les spectres d'électrons qui atteignent le noyau, partant du principe que le noyau est une cible cellulaire critique. Pour cela, le volume « noyau » a été déclaré comme un détecteur virtuel dans PENELOPE, permettant de récolter l'énergie cinétique de tous les électrons qui traversent la surface de l'extérieur vers l'intérieur. Un exemple de spectre obtenu pour une énergie d'irradiation de 58 keV peut être trouvé Figure 3.10-A.

Les spectres ont été comparés pour les quatre conditions : contrôle, *non-incubées*, *incubées rincées* et *incubées non-rincées*. Afin de séparer les électrons provenant des interactions avec le gadolinium de ceux de l'eau, nous avons normalisé les spectres par celui de contrôle. Un exemple pour l'énergie d'irradiation de 58 keV peut être trouvé Figure 3.10-B.

Nous voyons, pour ce cas, des pics apparaître entre 20 et 50 keV, avec des amplitudes allant d'un facteur 3 à 15. Nous pouvons remarquer que dans le cas des cellules *incubées rincées* les pics sont plus fins et décalés de 1 à 2 μm par rapport aux deux autres conditions. En effet, les électrons provenant du milieu externe ont plus de matière à traverser et perdent de l'énergie, ayant pour conséquence d'étaler le spectre vers les basses énergie en arrivant au noyau. En corrélant la position des pics avec les tables de relaxations atomiques et les énergies de liaisons du gadolinium (cf. an-

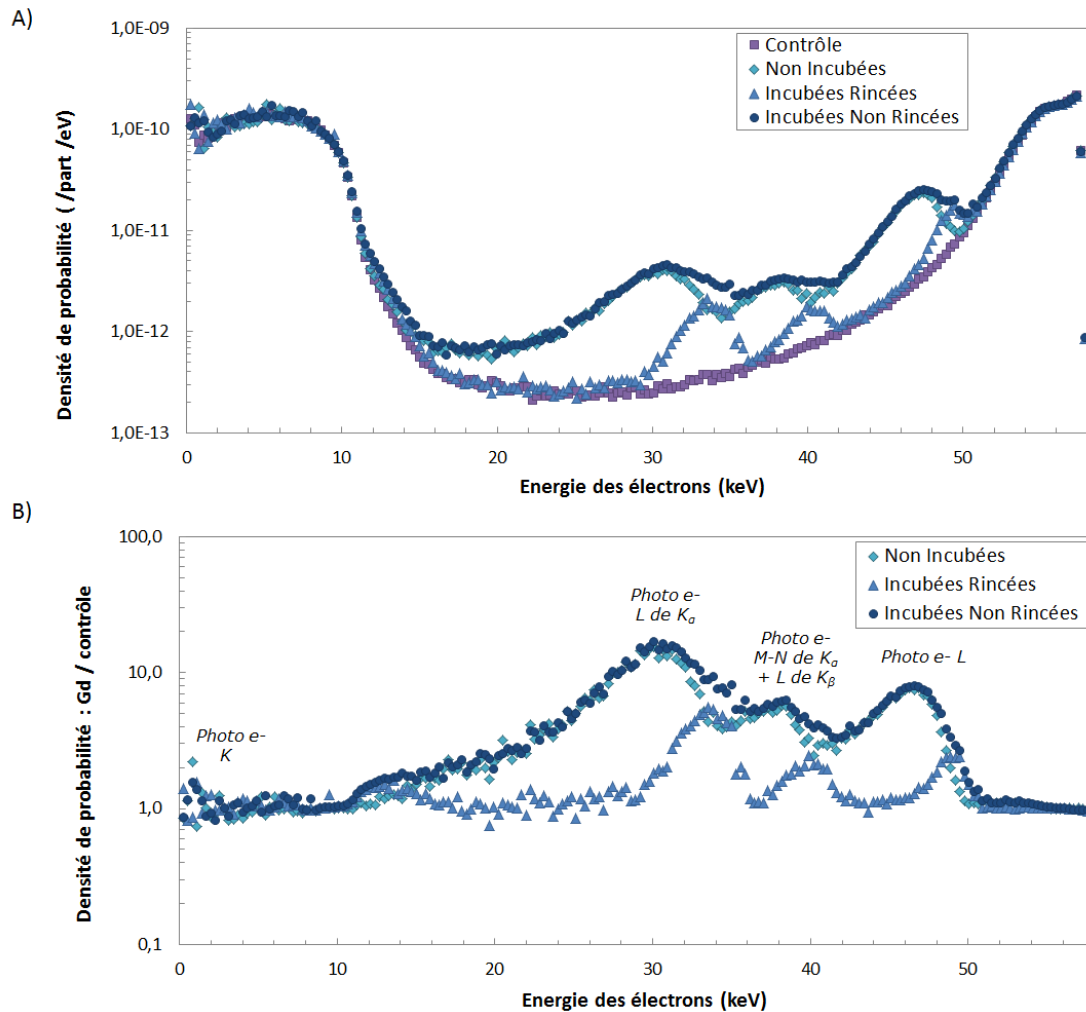


Figure 3.10: A : spectre d'électrons atteignant le noyau, avec une énergie d'irradiation RX de 58 keV. Comparaison de quatre conditions : contrôle, *non-incubées*, *incubées rincées* et *incubées non-rincées*. B : spectre normalisé par rapport au contrôle.

nexe A.1.2) nous pouvons essayer de préciser leurs origines. A 58 keV, l'interaction principale est l'absorption photoélectrique sur la couche K du gadolinium et la relaxation est radiative à 93 % (cf. annexe A.1.3). Les photons de fluorescence interagissent par contre préférentiellement en couche L du gadolinium. Sachant cela, le premier pic aux alentours de 30 keV pourrait correspondre aux photo-électrons produits par interaction photoélectrique en couche L des rayonnements de fluorescence K_α . Les raies K_α sont en effet les désexcitations radiatives les plus probables (75 %), on peut donc raisonnablement penser que leur contribution dans la production d'électrons n'est pas négligeable. Suivant ce même raisonnement, le deuxième pic moins visible pourrait correspondre à un mélange des photo-électrons M et N provenant des interactions K_α et des photo-électrons L provenant des interactions K_β . Enfin le troisième aux alentours de 46 keV devrait correspondre aux photo-électrons L provenant des photons primaires. Les photo-électrons K sont encore trop atténués à cette énergie pour les voir apparaître

dans le spectre. Nous pouvons remarquer que les électrons Auger et Coster-Krönig, recherchés dans de nombreuses études, sont de trop basse énergie pour pouvoir atteindre le noyau.

Cette conclusion est importante pour la corrélation de nos expériences sur cellules, avec des nanoparticules qui n'intègrent pas le noyau. En effet, la partie basse des spectres d'électrons est fortement atténuée dans le cytoplasme et le milieu externe. Deux hypothèses peuvent être formulées : soit les électrons de très basse énergie provenant des relaxations atomiques interviennent très peu dans l'augmentation de SER observée, soit l'ADN nucléaire n'est pas la cible responsable d'une telle radiosensibilité. Les composites présents dans le cytoplasme ou la membrane pourraient donc être des cibles cellulaires plus probables.

Les spectres d'électrons normalisés par rapport aux contrôles ont été étudiés pour toutes les énergies de faisceau. Il est intéressant de remarquer que les pics provenant des photons primaires (K et L) vont se déplacer en fonction de l'énergie du faisceau alors que ceux provenant des photons de fluorescence resteront aux mêmes énergies. Une représentation des spectres normalisés par rapport à l'eau pour les énergies de 25 keV à 80 keV peut être trouvée en annexe B.1.1.

Afin de quantifier l'évolution de ces spectres normalisés en fonction de l'énergie de faisceau, deux grandeurs ont été observées : la quantité totale d'électrons dus au gadolinium (intégrale) et leur parcours moyen dans l'eau. Le parcours moyen a été calculé à partir de l'énergie moyenne du spectre d'électrons et des tables du NIST pour la correspondance de l'énergie au parcours dans l'eau [Berg 05]. Les résultats peuvent être trouvés en Figure 3.11.

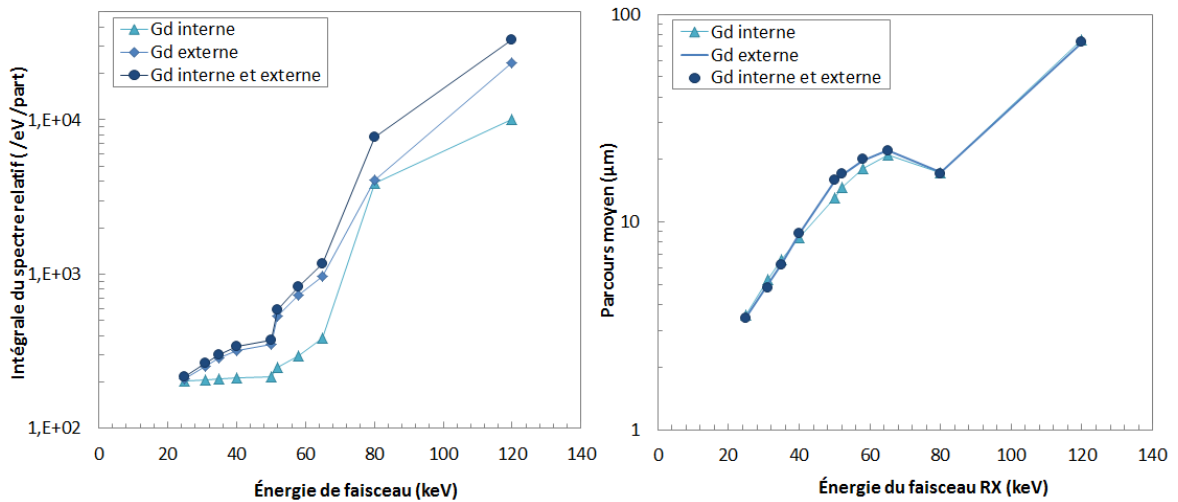


Figure 3.11: Quantité (A) et parcours moyen (B) des électrons atteignant le noyau en fonction de l'énergie de faisceau. Les spectres sont normalisés par rapport au contrôle. Trois conditions : *incubées rincées*, *non-incubées* et *incubées non-rincées*.

Nous observons, sur la Figure 3.11-A, une augmentation importante (de deux ordres

de grandeurs) de la quantité d'électrons qui atteignent le noyau avec l'augmentation de l'énergie du faisceau. Cette augmentation globale s'accompagne d'une augmentation de l'énergie moyenne de ces électrons, et donc de leur parcours dans l'eau, comme nous pouvons le voir sur la Figure 3.11-B. En analysant la quantité d'électrons, on observe que la courbe du gadolinium interne montre des quantités plus faibles que les deux autres conditions (jusqu'à un facteur 3), lié à la plus faible concentration en gadolinium. En termes de parcours moyen des électrons, la différence entre les conditions est très peu marquée.

Nous pouvons distinguer plusieurs phases d'augmentation à partir de ces courbes. Une première augmentation, faible, de la quantité d'électrons est notée entre 25 et 50 keV dans le cas du gadolinium présent à l'extérieur, à peine marquée dans le cas interne. Les électrons observés proviennent principalement des interactions photoélectriques en couche L. Il s'agit ici d'une diminution de la quantité d'électrons absorbés dans le milieu lorsque l'on augmente l'énergie de faisceau. D'après la figure B, nous voyons effectivement que le parcours moyen des électrons augmente de 3 à 15 μm dans cette gamme d'énergie. Pour 25 keV par exemple, bien que les sections efficaces d'interaction soient plus importantes qu'à 50 keV, les électrons produits en plus grand nombre sont en majorité absorbés avant d'atteindre le noyau, avec un parcours moyen de 3 μm .

De 50 à 65 keV, une augmentation plus importante de la quantité d'électrons peut être observée, suivie d'un saut en passant de 65 à 80 keV (facteur 10 d'augmentation entre ces deux énergies dans le cas du Gd interne). Cette dernière augmentation brusque s'accompagne d'une diminution de l'énergie moyenne des électrons à 80 keV. Nous voyons ici apparaître l'influence du pic des photo-électrons K. L'énergie moyenne des électrons constituant ce pic devient suffisante pour atteindre le noyau à partir d'une énergie de faisceau de 80 keV, à l'origine de cette augmentation soudaine de la quantité d'électron.

Il est difficile de tirer des conclusions quant à l'effet biologique observé à partir de ces courbes. L'information de la quantité d'électrons qui atteignent le noyau ne peut pas être assimilée à une augmentation de dose car plus le parcours moyen des électrons détectés au noyau augmente, plus la fraction d'énergie déposée dans ce volume diminue. La comparaison avec le DEF calculé au noyau en Figure 3.5-A, ou même Figure 3.9-B, montre un maximum aux alentours de 31 keV. On peut assimiler ici ce maximum à un compromis optimal entre la quantité d'électrons détectée et leur énergie moyenne. La conclusion principale que nous pouvons tirer de cette étude de spectre est celle explicitée précédemment ; nous n'observons pas de phénomène spécialement lié aux électrons de très basse énergie au niveau du noyau, ni de signature très marquée du seuil K du gadolinium. La signature biologique observée au passage du seuil K est peut être liée à un effet dans une autre partie de la cellule mais aussi à l'aspect particulière du Gd.

3.3.5 Gadolinium homogène : ce que l'on peut en tirer

Dans cette partie, nous avons utilisé une géométrie unicellulaire pour étudier les augmentations de dose et les spectres d'électrons en présence de gadolinium sous la forme homogène. Nous avons profité du gain de temps de calcul que permet ce modèle homogène pour couvrir un large panel de données en fonction de la localisation du gadolinium.

Dans la première partie de l'étude (cf. section 3.3.3.1), nous avons cherché à mettre en évidence l'effet de la cible cellulaire observée (le noyau, le cytoplasme et la membrane) en termes de DEF moyens. Globalement, les DEF au noyau sont plus faibles que ceux au cytoplasme et à la membrane à cause de la distance moyenne parcourue par les électrons produits par interaction avec le gadolinium externe. Une confrontation des données calculées avec les données mesurées a été faite, avec les résultats obtenus en présence de Magnevist® dans un premier temps, et ceux obtenus avec des GdNP dans un deuxième temps. La comparaison des DEF obtenus dans le cas du gadolinium présent à l'extérieur de la cellule avec les SER_{4Gy} Magnevist® a montré des résultats du même ordre de grandeur. Une dissymétrie est cependant observée par rapport au seuil K du gadolinium, les DEF calculés étant trouvés plus importants en dessous du seuil alors que les SER_{4Gy} montrent une augmentation importante juste après ce seuil. Cela a été attribué en partie au manque de contribution des électrons de plus haute énergie associé à la restriction du milieu extra-cellulaire à une taille de 15 μm de côté. L'influence de la taille de ce volume sur les résultats de DEF a donc été étudiée afin de mettre en évidence cet effet (cf. partie 3.3.3.2). Une augmentation du DEF a été observée en fonction de la taille du milieu, marqué d'une saturation à partir de 20 μm de rayon (irradiation à 80 keV). Ce résultat a confirmé l'existence d'un biais lié à la restriction de la taille du milieu externe dans notre géométrie unicellulaire. Une comparaison des DEF calculés avec les volumes de 15 et 40 μm , a permis d'observer un gain pour les énergies au delà du seuil K du gadolinium. La tendance obtenue à 40 μm se rapproche donc des résultats de SER_{4Gy} dans le sens où ils sont plus importants pour les énergies au delà du seuil K que pour celles en dessous. Néanmoins la corrélation n'est pas parfaite, les maxima locaux ne correspondent pas et le passage du seuil n'est pas autant marqué que pour le SER. Le volume extra-cellulaire de 15 μm a été conservé dans la suite afin de gagner du temps de calcul pour la prise en compte des nanoparticules.

La comparaison des DEF par rapport aux résultats de SER_{4Gy} obtenus en présence de GdNP a montré des différences très importantes en termes d'amplitudes. Nous avons conclu de ces écarts que ce modèle dosimétrique, sans prise en compte de la forme des nanoparticules ni de leur action biologique, n'était pas suffisant pour représenter les résultats expérimentaux obtenus en présence de GdNP.

Pour compléter l'étude dosimétrique, une dernière étude a porté sur les spectres d'électrons qui atteignent le noyau cellulaire (cf. partie 3.3.4). La conclusion la plus importante qui a pu être tirée de cette analyse est que les électrons de haut TEL (< 10 keV) ne sont pas visibles au niveau du noyau. La contribution des photo-électrons K semble apparaître à partir de 65 à 80 keV. Deux hypothèses ont été

avancées : soit les électrons de basse énergie ne sont pas responsables de la réponse biologique observée, soit l'ADN nucléaire n'est pas la cible principale.

Afin d'approfondir les résultats obtenus dans l'ensemble de la section 3.3, il devient nécessaire de prendre en compte la forme des nanoparticules de gadolinium à l'échelle cellulaire dans un premier temps, puis à une échelle inférieure.

3.4 Simulation : étude de la forme du gadolinium

Après avoir étudié l'aspect homogène du gadolinium dans différentes conditions, nous nous sommes intéressés à l'influence de la forme du gadolinium. Pour cela nous avons tout d'abord comparé les résultats obtenus en section 3.3.3.1 avec la prise en compte de nanoparticules de différents diamètres à l'échelle cellulaire (cf. section 3.4.1). Nous nous sommes ensuite intéressés à différentes localisations des nanoparticules au sein de la cellule dans le cas où elles sont internalisées : réparties aléatoirement dans le cytoplasme, sur la membrane cellulaire et dans des vésicules. Ces choix de localisation ont été faits à partir de données biologiques sur cellules et tissus tumoraux (cf. section 3.4.2). L'étude de cartes en deux dimensions de la dose absorbée a permis d'observer l'hétérogénéité des dépôts associée à ces différentes localisations.

3.4.1 Prise en compte des nanoparticules à l'échelle cellulaire

Dans cette partie, des nanoparticules de diamètre de 10 à 100 nm ont été étudiées à l'échelle cellulaire et pour les trois conditions de localisation du gadolinium décrites en section 2.2.3.2. Pour les concentrations étudiées ici, le nombre de volumes à prendre en compte peut aller jusqu'à l'ordre du million. Cette prise en compte a pu être faite grâce au code Geant4.

3.4.1.1 Validation de Geant4 par rapport à PENELOPE

Puisque la majorité des calculs ont été faits avec le code PENELOPE, il est d'abord nécessaire de s'assurer que les deux codes donnent des résultats similaires dans des conditions identiques. Les deux codes ont été comparés sur la base de DEF calculés à l'échelle du centimètre, du micromètre et sur les spectres d'électrons émis par une nanoparticule de gadolinium.

La comparaison à l'échelle du centimètre a été faite à partir du DEF calculé dans un cube de 1 cm de côté. Le DEF correspond au rapport de la dose absorbée avec un mélange d'eau et de gadolinium à une concentration de 1,8 mg/ml par rapport à la dose dans l'eau. Le résultat de la comparaison avec le code PENELOPE et avec le code Geant4 (modèle physique *Livermore*) peut être trouvé en Figure 3.12-A. Pour calculer le DEF à l'échelle micrométrique nous avons utilisé la même géométrie que celle décrite en section 3.3.1 (cf. Figure 3.3). Pour la comparaison, nous avons calculé le DEF au cytoplasme dans le cas des cellules *incubées non-rincées* avec les deux codes

Monte Carlo. Le résultat de la comparaison au niveau de la cellule est présenté sous forme d'histogramme de la même manière qu'en section 3.3.3.1 et peut être trouvé Figure 3.12-B.

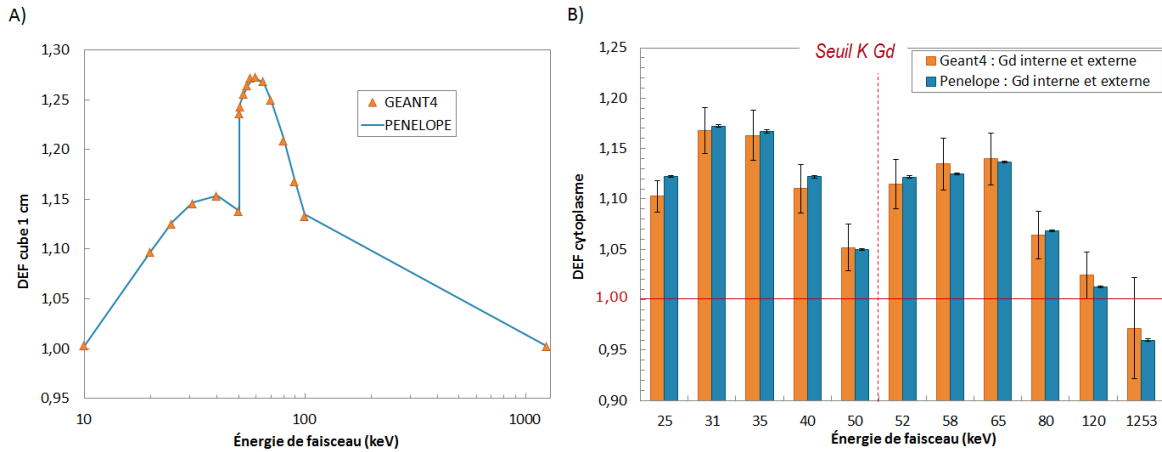


Figure 3.12: A : Comparaison des codes PENELOPE et Geant4 pour le calcul du DEF dans un cube de 1 cm de côté, avec du gadolinium homogène à une concentration de 1,8 mg/ml. B : comparaison du DEF au niveau du cytoplasme dans le cas des cellules *incubées non-rincées*.

Les résultats du DEF macroscopique (Figure 3.12-A) montrent un accord excellent entre les deux codes Monte Carlo. Ceux du DEF au cytoplasme sont également équivalents mais présentent néanmoins de faibles écarts, inclus dans les erreurs statistiques des valeurs obtenus avec Geant4. Pour ce calcul, 10^8 photons primaires ont été tirés dans PENELOPE et 10^9 dans Geant4. Nous pouvons voir que malgré la différence de particules primaires, les incertitudes associées au résultats de Geant4 sont encore grandes par rapport à celles associées aux résultats de PENELOPE. Cela est lié au fait que nous n'utilisons pas de réduction de variance avec le code Geant4. Ce point avait été discuté dans le chapitre précédent (cf. section 2.3.6).

Nous avons donc vérifié ici que les dépôts d'énergie étaient équivalents pour les deux codes à l'échelle du centimètre et du micromètre. Afin de s'assurer aussi que les relaxations atomiques sont bien prises en compte dans Geant4, nous avons fait la comparaison de spectres d'électrons sortant d'une GdNP sous irradiation. La géométrie utilisée pour ce calcul et les interprétations tirées de ce type de spectre sont détaillées dans le prochain chapitre (cf. section 4.2.1). Pour la comparaison nous avons utilisé une nanoparticule de 100 nm de diamètre et un faisceau RX de 52 keV. Le résultat obtenu avec le code PENELOPE et Geant4, pour deux modèles physiques différents, est présenté en Figure 3.13.

L'accord observé entre les trois spectres est très satisfaisant, toutes les raies spécifiques au gadolinium sont bien représentées. L'utilisation, dans Geant4, du modèle physique *Penelope* ou *Livermore* ne fait pas de différence sur le résultat. Les

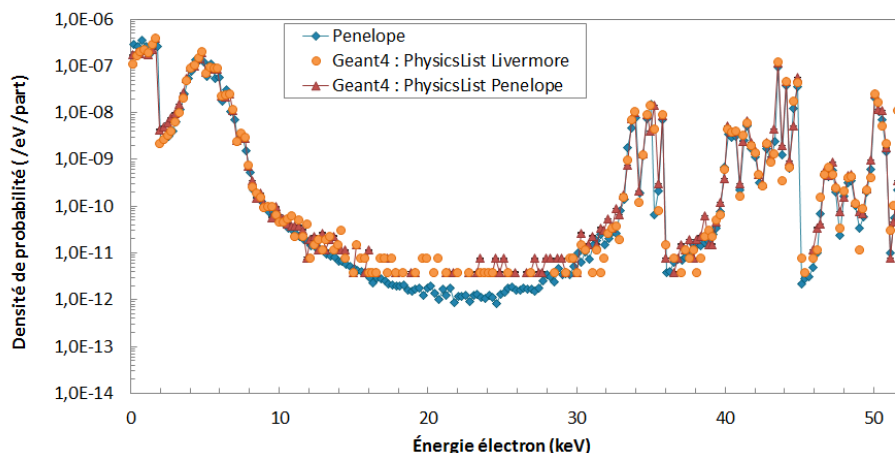


Figure 3.13: Spectres d'électrons émis par une nanoparticule de gadolinium de 100 nm sous irradiation RX (52 keV). Comparaison du code PENELOPE et du code Geant4 (modèles physiques *Penelope* et *Livermore*).

écarts observés avec le résultat du code PENELOPE, pour les zones du spectre de plus faible intensité, sont certainement dus à un problème de statistiques pour le calcul avec Geant4. Les barres d'erreurs ne sont pas montrées ici pour une question de lisibilité du graphique.

Au vu de ces trois comparaisons, nous pouvons valider les calculs réalisés avec le code Geant4, en termes de dépôts d'énergie et de prise en compte des différentes sous-couches atomiques du gadolinium dans les modèles physiques.

3.4.1.2 Résultats des DEF moyens avec les GdNP : Geant4

Dans cette section, l'objectif est de faire la comparaison du modèle de gadolinium homogène et sous forme de nanoparticules. Pour cela, nous avons utilisé la même géométrie que celle présentée en Figure 3.3. Des dimensions identiques ont été utilisées pour la cellule et le milieu extra-cellulaire mais le mélange homogène de gadolinium et d'eau a été remplacé par des nanoparticules. Un exemple de la géométrie cellule utilisée dans Geant4 peut être trouvé en Figure 3.14, dans le cas des cellules *non-incubées* avec des GdNP de 100 nm de diamètre.

La position des nanoparticules a été générée aléatoirement afin d'obtenir une répartition homogène dans le cytoplasme, le milieu extra-cellulaire, ou les deux, selon la condition. Nous avons étudié les trois mêmes conditions que dans la section 3.3.3.1. Dans chaque cas, nous avons comparé le calcul de la dose moyenne avec un mélange de gadolinium homogène ou avec des nanoparticules. Quatre rayons de nanoparticules ont été utilisés : 5, 15, 25 et 50 nm. Pour chaque condition d'incubation nous avons calculé le nombre de nanoparticules nécessaires, en fonction de leur taille, pour retrouver les concentrations en gadolinium utilisées précédemment. Ces calculs d'équivalence sont

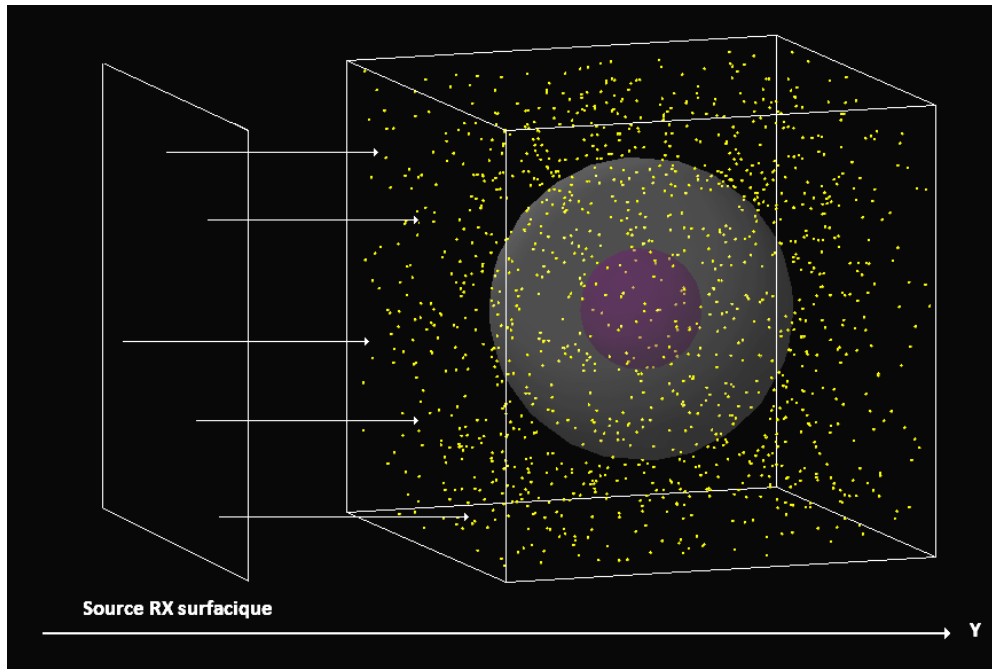


Figure 3.14: Représentation en trois dimensions de la géométrie unicellulaire utilisée dans Geant4. Exemple du cas des cellules *non-incubées*, avec 1450 GdNP de 100 nm de diamètre réparties aléatoirement dans le volume extra-cellulaire.

regroupés dans le tableau 3.2.

Table 3.2: Tableau d'équivalence entre les concentrations en gadolinium et le nombre de nanoparticules à considérer.

Conditions	Gd homogène Concentration (mg/ml)	Nombre de nanoparticules			
		5 nm	15 nm	25 nm	50 nm
Incubées rincées	0,612	72501	2685	580	73
Non-incubées	2,1	1447428	53608	11579	1447
Incubées non-rincées (ext)	1,8	1240652	45950	9925	1241

Nous voyons ici que le nombre de nanoparticules à modéliser, pour les cas de cellules *non-incubées* et *incubées non-rincées* est supérieur au million pour des GdNP de 5 nm de rayon. Pour ces conditions, les temps de calculs nécessaires pour obtenir une incertitude raisonnable sur la dose sont de l'ordre de la semaine par énergie d'irradiation sur un processeur (avec 10^9 photons primaires). Pour le gadolinium homogène nous sommes à l'échelle de la demi-journée.

Les DEF moyens obtenus pour les différentes formes du gadolinium en fonction de l'énergie du faisceau et des trois conditions d'incubation sont représentés en

Figure 3.15. Seul le DEF au cytoplasme a été représenté ici pour des raisons de visibilité. De plus les incertitudes statistiques associées aux DEF calculés au noyau et à la membrane sont très élevées, si bien qu'il est difficile d'en tirer des conclusions significatives.

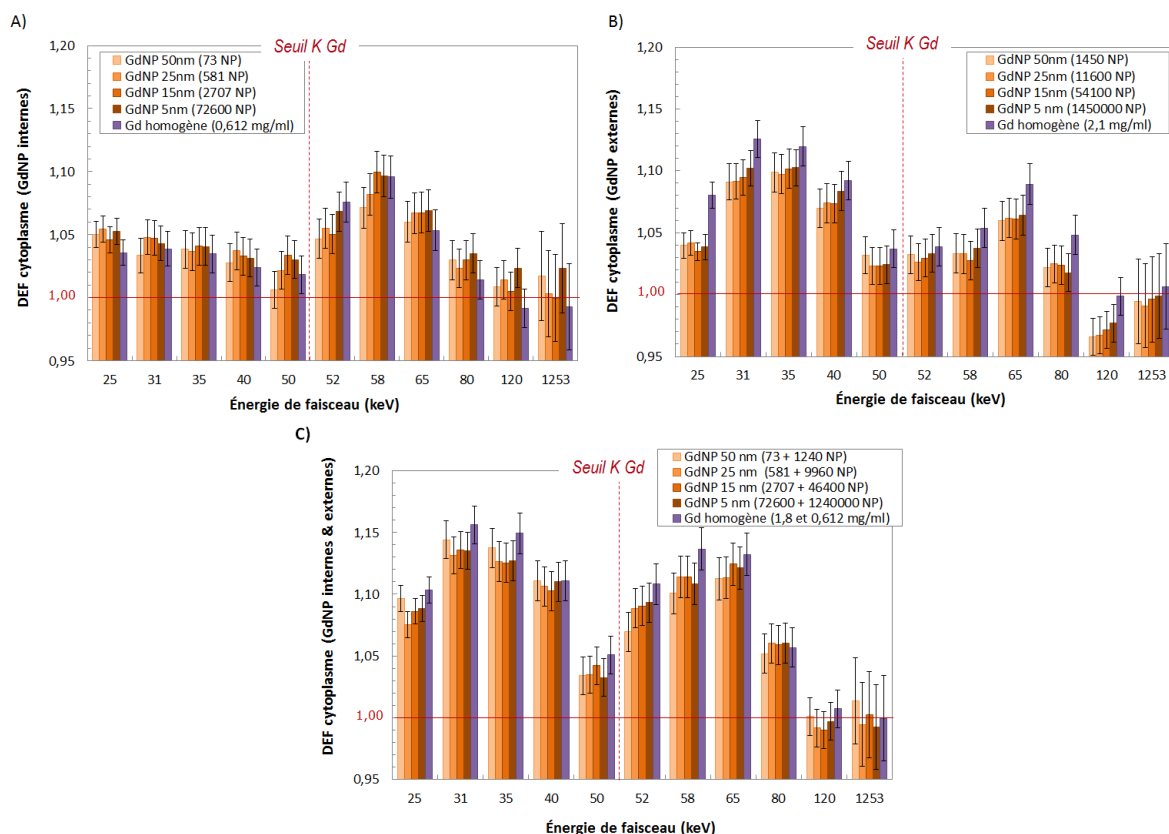


Figure 3.15: Comparaison des DEF obtenus dans le cytoplasme pour les trois conditions de localisation du gadolinium : *incubées rincées* (A), *non-incubées* (B) et *incubées non-rincées* (C).

En observant la forme globale des trois histogrammes nous constatons que le maximum du DEF se trouve à 58 keV dans le cas du gadolinium interne et à 31 keV pour le gadolinium externe. La condition *incubées non-rincées* correspond bien à un cumul des deux précédentes. Une analyse détaillée a été faite en section 3.3.3.1 autour de ces tendances. Concernant la prise en compte des nanoparticules, nous observons très peu de différences avec les résultats obtenus dans le cas homogène sur le DEF moyen au cytoplasme. Les différences les plus visibles correspondent au cas du gadolinium externe (cf. Figure 3.15-B), où nous observons un DEF légèrement plus faible en présence de nanoparticules par rapport au cas homogène. Cet effet est le plus visible entre 25 et 35 keV et à 65 et 80 keV. Nous pouvons supposer qu'il y a ici un effet d'auto-absorption des électrons dans les nanoparticules qui contribue à diminuer la dose au cytoplasme.

Nous n’observons cependant pas de différence entre les tailles de nanoparticules. Il est possible que les fractions des électrons absorbés, entre les GdNP de 5 et de 50 nm, soient trop proches pour que l’on voie l’influence sur le cytoplasme dans le cas du gadolinium externe. En revanche, dans le cas du gadolinium interne (cf. Figure 3.15-A), nous pouvons remarquer une légère différence entre les différents rayons de nanoparticules à 52 keV. À cette énergie, le DEF est en effet plus faible pour les plus gros rayons (de 15 à 50 nm), sous-entendant l’absorption d’une partie des photo-électrons K produits dans les nanoparticules.

Ces effets sont cependant faibles et peu significatifs au vu des incertitudes. Nous pouvons conclure à partir de ces résultats que l’étude du DEF moyen n’est pas adaptée pour expliquer l’augmentation très importante de la réponse biologique en présence de nanoparticules par rapport au cas homogène. Nous observons même une tendance inverse, avec un DEF au cytoplasme globalement plus faible pour le gadolinium sous forme de nanoparticules que pour la forme homogène. Il est également difficile de conclure à une influence du diamètre des nanoparticules. Nous avons étudié l’influence du diamètre plus en détail dans le chapitre 4. L’étude décrite dans la section suivante 3.4.2 a été réalisée pour tenter de mettre en évidence la spécificité des nanoparticules et l’influence de leur localisation dans la cellule.

3.4.2 Étude de l’hétérogénéité de la dose

Nous avons vu en section 3.2.3 que les GdNP incubées avec les cellules causaient la radiosensibilité la plus élevée. Il nous a alors semblé intéressant d’étudier plus particulièrement cette condition, avec une concentration en gadolinium plus élevée (2 mg/ml), afin de mettre en évidence les différences potentiellement liées à la forme du gadolinium. Les comparaisons ont été faites en termes de DEF moyen, dans un premier temps, afin de se référer aux résultats obtenus précédemment. Nous nous sommes ensuite intéressés aux cartes de doses en deux dimensions pour observer l’hétérogénéité du dépôt de la dose en fonction des localisations. Ces comparaisons ont été faites avec toujours la même géométrie de base que celle décrite en Figure 3.3. La particularité de cette étude, par rapport à la précédente (section 3.4.1.2), est que nous avons comparé trois conditions d’internalisation du gadolinium basées sur des images de microscopie (cf. Figure 3.4.2.1). Ces conditions sont décrites plus en détail dans la suite. Afin de réduire les erreurs statistiques pour les cartes de doses, nous avons fait cette étude avec le code PENELOPE, en utilisant des GdNP de 50 nm de rayon pour limiter au maximum le nombre de volumes à simuler.

3.4.2.1 Géométrie des cas étudiés

Les trois conditions citées précédemment correspondent au gadolinium sous les formes suivantes : aggloméré dans des vésicules (appelées lysosomes), GdNP réparties uniformément dans le cytoplasme et GdNP réparties sur la membrane cellulaire. Nous comparons toujours les résultats avec la condition du mélange homogène de

gadolinium et d'eau comme référence. La Figure 3.16 est une représentation de la géométrie utilisée pour ces quatre conditions.

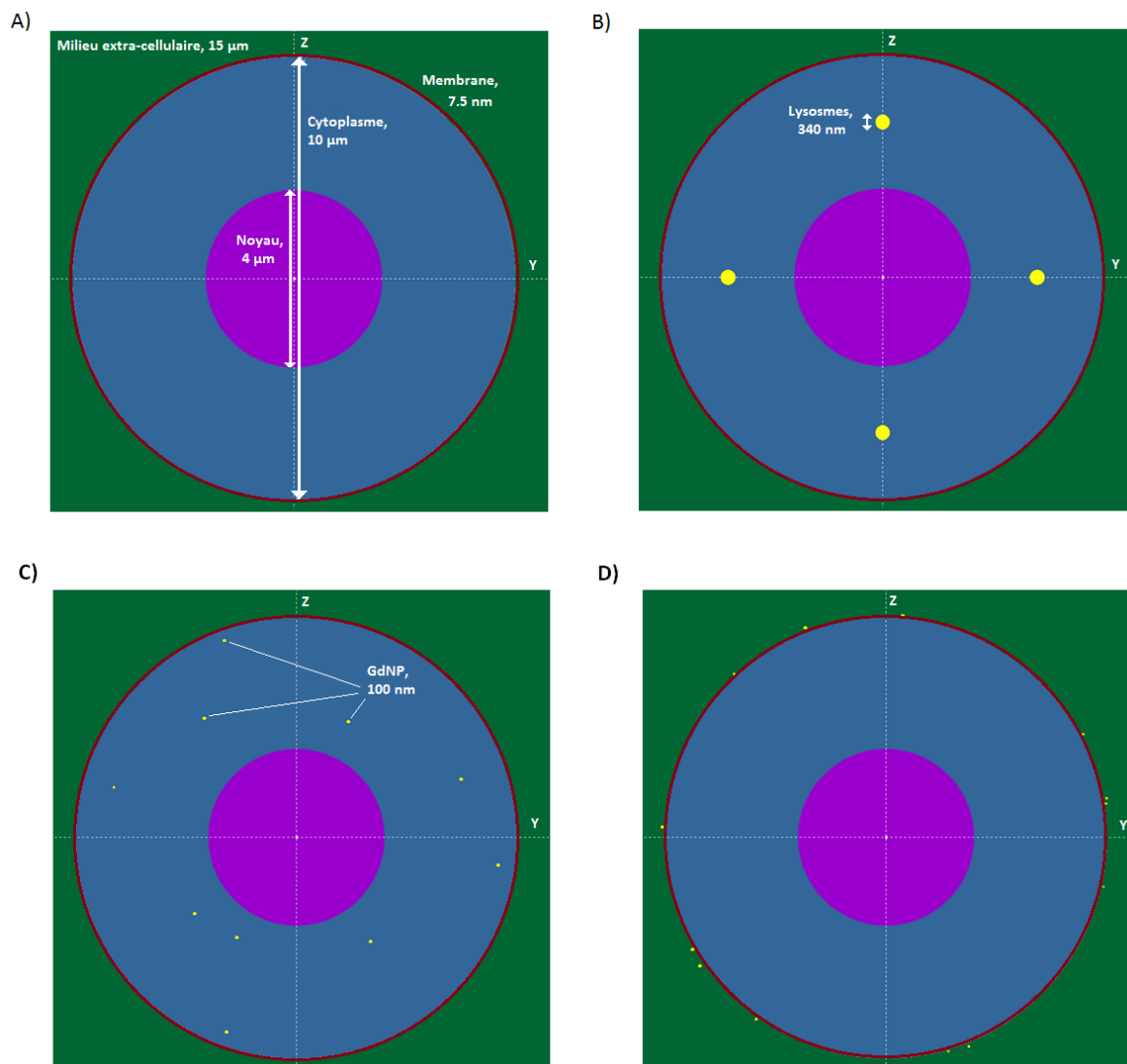


Figure 3.16: Représentation dans le plan YZ de la géométrie unicellulaire pour quatre cas de prise en compte du gadolinium internalisé : Homogène (A), amas du Gd dans les lysosomes (B), GdNP de 100 nm réparties dans le cytoplasme (C) et réparties sur la membrane (D).

Dans le cas homogène, seul le cytoplasme est rempli d'un mélange d'eau et de gadolinium à une concentration de 2 mg/ml (Figure 3.16-A). Pour les lysosomes, l'équivalent des 2 mg/ml a été obtenu avec six sphères de 340 nm de diamètres remplies de gadolinium (Figure 3.16-B). Les sphères ont été placées de manière symétrique, au milieu du cytoplasme, sur les six demi-axes de la géométrie (X-, X+, Y-, Y+, Z- et Z+). Pour les deux conditions considérant les nanoparticules, 237 GdNP de 100 nm de diamètre ont été réparties aléatoirement à l'intérieur du cytoplasme, dans un cas

(Figure 3.16-C), et sur une fine couche autour de la membrane dans un deuxième cas (Figure 3.16-D). L'irradiation est faite de la même façon que pour les études précédentes, c'est à dire avec une source surfacique carrée de $15\ \mu\text{m}$ de côté placée devant le milieu extra-cellulaire.

Le choix de ces conditions n'a pas été fait au hasard. Il est basé sur des images réalisées à l'ESRF par microscopie électronique avec des nanoparticules d'or et par microscopie à fluorescence avec les nanoparticules de gadolinium. La Figure 3.17 montre les images sur lesquelles nous nous sommes basés pour ce modèle.

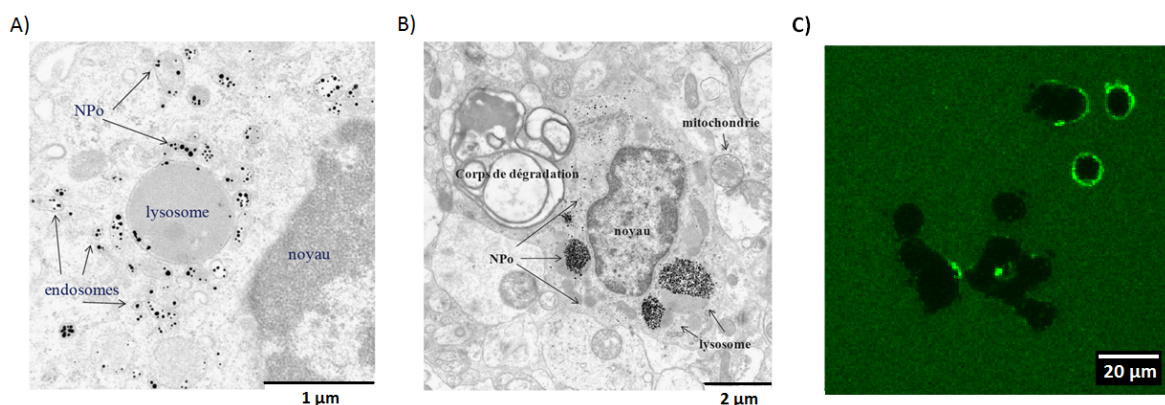


Figure 3.17: A et B : images réalisées par microscopie électronique sur des tissus tumoraux d'un rat euthanasié 24h (A) et 6 jours (B) après injection de AuNP de $15\ \text{nm}$ [Boby 10]. C : image réalisée par microscopie à fluorescence sur cellules F98 après 5 h d'incubation avec des GdNP (Florence Taupin).

Pour le modèle des nanoparticules réparties sur la membrane, il s'agit de la condition la plus probable pour les expériences cellulaires faites à l'ESRF avec les GdNP, dont les résultats ont été présentés en section 3.2. En effet, ce point avait été discuté dans le chapitre précédent (cf. section 2.2.2). Les images, réalisées par microscopie à fluorescence par Florence Taupin, montraient une agglomération spécifique des GdNP sur les membranes comme nous pouvons le voir sur la Figure 3.17-C (cf. aussi Figure 2.2.2). Les deux autres modèles étudiés, des nanoparticules réparties dans le cytoplasme ou agglomérées dans des lysosomes, sont basés sur les Figures 3.17-A et B. Ces images ont été réalisées par Laure Bobyk durant sa thèse [Boby 10], sur des tissus tumoraux (gliomes F98) de rats euthanasiés 24h (Figures 3.17-A) et 6 jours (Figures 3.17-B) après injection de nanoparticules d'or de $15\ \text{nm}$ de diamètre [Nanob]. Sur ces images, nous pouvons voir que dans le premier cas, les AuNP se trouvent dans des petites vésicules, nommées endosomes. Sur cette image les nanoparticules sont relativement espacées les unes des autres. C'est ce que nous avons assimilé dans notre modèle à une répartition uniforme des NP dans le cytoplasme. Sur la deuxième image, réalisée 6 jours après injection, les AuNP se sont concentrées dans les lysosomes. Cette image a servi de base pour notre modèle d'agglomération du gadolinium dans

des lysosomes. Les deux images faites par Laure Bobyk ont montré que les AuNP de 15 nm semblent entrer dans les cellules par endocytose [Cant 12], ce qui n'a pas été montré avec les GdNP utilisées dans nos expériences.

Au vu de ces images, l'irradiation va certainement jouer un rôle différent selon le temps pendant lequel les cellules (ou le tissu) sont incubées avec les nanoparticules. Nous avons calculé les doses moyennes absorbées au noyau, au cytoplasme et à la membrane en fonction de l'énergie du faisceau d'irradiation. Ces résultats sont présentés en section 3.4.2.2. Les cartes de doses 2D dans le plan YZ ont aussi été étudiées pour trois énergies de faisceau (31, 52 et 65 keV) et sont décrites en section 3.4.2.3.

3.4.2.2 Comparaison des DEF moyens

Pour se référer aux autres études qui ont été faites précédemment, nous avons commencé par comparer les doses moyennes dans les trois parties cellulaires de notre modèle. La Figure 3.18 regroupe les résultats obtenus.

Au premier abord, nous pouvons remarquer que la forme et la localisation du gadolinium influe de façon importante sur les différentes parties cellulaires. Si le DEF obtenu au noyau (Figure 3.18-A) est relativement semblable pour les quatre conditions, les DEF au cytoplasme (Figure 3.18-B) et à la membrane (Figure 3.18-C) dépendent en revanche beaucoup de la condition.

Pour ce qui est du noyau, nous observons une diminution du DEF dans le cas des GdNP placées sur la membrane, simplement liée à l'absorption d'une partie des électrons qui doivent traverser 3 μm au lieu de 1,5 μm en moyenne dans les trois autres cas.

Au niveau du cytoplasme, d'importantes différences apparaissent entre les quatre conditions, rappelant les effets d'auto-absorption observés en section 3.4.1.2. La condition homogène domine les autres. Nous pouvons déjà observer une forte diminution du DEF en passant aux nanoparticules de 100 nm de diamètre, surtout après le seuil K, laissant penser qu'une majorité des photo-électrons K, produits à 52 keV, déposent leur énergie dans les nanoparticules. L'effet est encore plus visible avec les lysosomes de 340 nm de diamètre, ce qui renforce l'hypothèse précédente. Dans le cas des nanoparticules sur la membrane, on observe un cumul de l'effet d'absorption par les NP elles mêmes et de l'énergie en partie perdue dans le milieu extra-cellulaire. Ces conclusions laissent à penser que le cas homogène devrait avoir un impact plus important sur la cellule qu'en présence de nanoparticules. Ce phénomène pourrait potentiellement être observé expérimentalement avec des nanoparticules qui seraient neutres pour les cellules après incubation, ce qui n'est pas le cas de celles utilisées dans nos expériences (cf. Figure 3.1). Il est aussi possible que l'augmentation de dose locale autour des nanoparticules soit diluée dans le volume du cytoplasme et ne soit donc pas visible sur ce graphique.

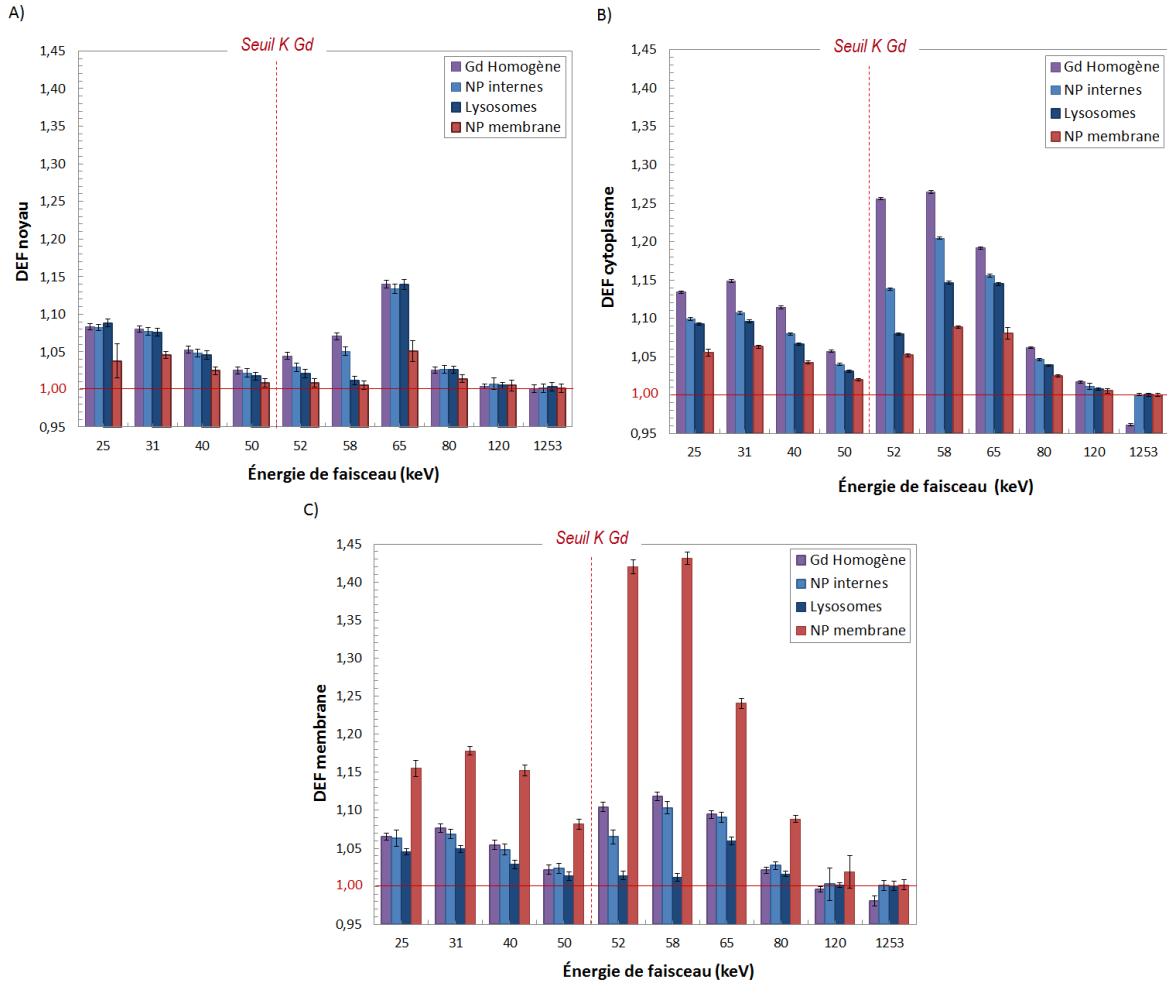


Figure 3.18: Comparaison des DEF obtenus dans le noyau (A), le cytoplasme (B) et la membrane (C) pour les quatre conditions de localisation du gadolinium incubé : homogène, amas dans les lysosomes, NP de 100 nm réparties dans le cytoplasme et réparties sur la membrane.

En s'intéressant à la membrane, on remarque que le DEF est beaucoup plus important dans le cas des nanoparticules placées à proximité de celle-ci. L'effet d'augmentation est directement visible ici grâce au volume très fin de la membrane. En effet, les nanoparticules sont placées dans une bande de 120 nm de largeur autour de la membrane. La dose à la membrane reflète donc correctement l'augmentation de dose locale, à quelques nanomètres des nanoparticules. En particulier, nous voyons ici très clairement apparaître l'impact du passage du seuil K du gadolinium sur le DEF, ce qui rappelle les tendances observées pour le SER_{4Gy} .

Afin de vérifier cette similitude, nous avons confronté sur trois histogrammes les résultats de SER_{4Gy} , dans le cas expérimental des cellules *incubées rincées*, et ceux du DEF au noyau (cf. Figure 3.19-A), au cytoplasme (cf. Figure 3.19-B) et à la membrane

(cf. Figure 3.19-C), dans le cas simulé des GdNP réparties à proximité de la membrane. Ce modèle devrait être le plus réaliste au vu des images observées par microscopie à fluorescence (cf. Figure 3.17-C). Le SER_{4Gy} a été « normalisé » par rapport à la haute énergie du DEF afin de s'affranchir des effets biologiques discutés en section 3.2.3. Toutes les valeurs de SER_{4Gy} ont pour cela été multipliées par un facteur correctif, égal au rapport du DEF_{Cobalt} sur le SER_{Cobalt} (facteur 0,7 environ). Cette astuce permet de se focaliser sur la comparaison des tendances, qui devraient dépendre seulement des lois physiques d'interactions.

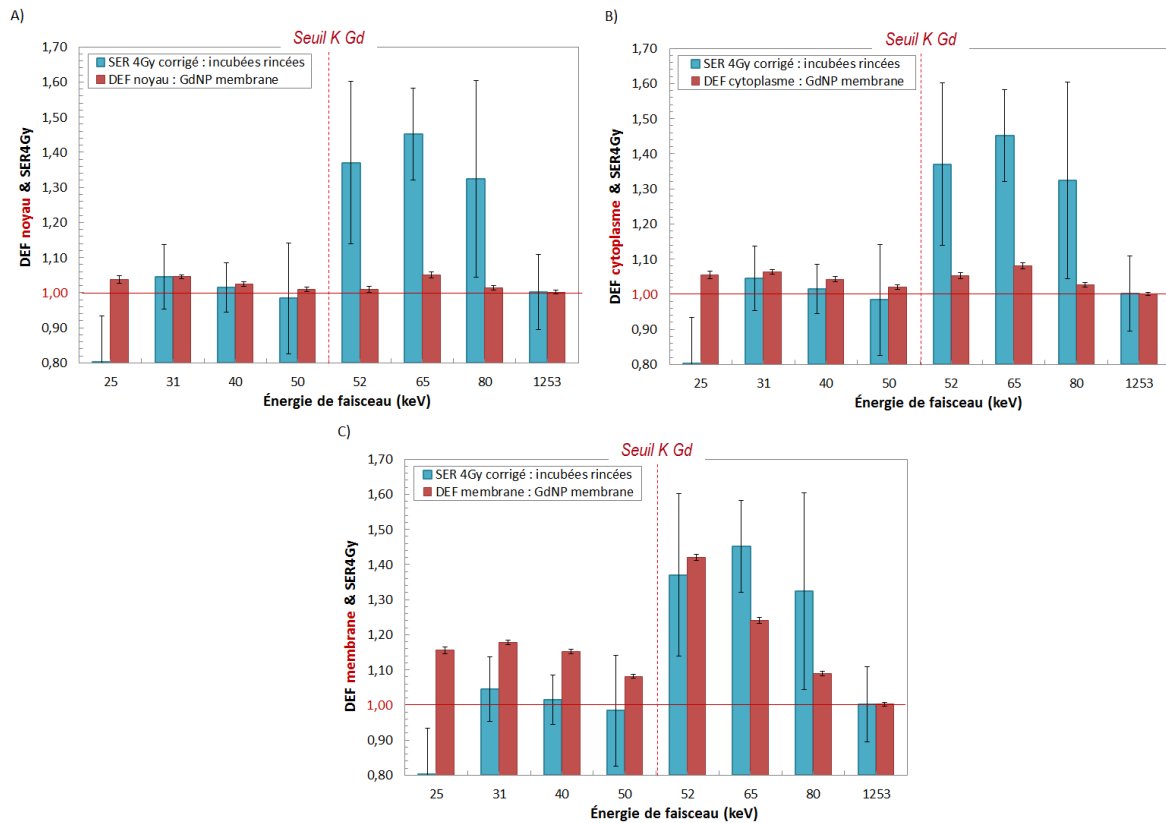


Figure 3.19: Confrontation du SER_{4Gy} obtenu expérimentalement pour les cellules *incubées rincées* et du DEF au noyau (A), au cytoplasme (B) et à la membrane (C) dans le cas de GdNP de 100 nm de diamètre réparties sur la membrane. Le SER_{4Gy} est mis à l'échelle du DEF à l'énergie du cobalt 60.

Nous pouvons remarquer sur cette figure, que seul la tendance du DEF à la membrane est cohérente avec celle du SER_{4Gy} . On observe en effet une augmentation marquée du DEF à la membrane au passage du seuil K du gadolinium à 52 keV, qui n'est pas visible pour le noyau et le cytoplasme. Le test statistique appliqué aux deux distributions de la Figure 3.19-C donne une *p-value* de 0,113. Cette constatation indique que la membrane est probablement une cible prioritaire quant à la radiosensibilité observée expérimentalement en présence de GdNP.

Globalement, notre modèle surestime l'effet des énergies inférieures au seuil K

du gadolinium et sous-estime plutôt l'effet à 65 et 80 keV par rapport aux résultats expérimentaux. Comme cela avait été discuté précédemment, il est probable que l'effet biologique final ne soit pas seulement dû à une partie de la cellule mais à une combinaison d'effets cumulés sur l'ensemble de la cellule. D'après la comparaison observée Figure 3.19-C nous pouvons penser que les dommages à la membrane sont responsables d'une part importante de la radiosensibilité finale, mais les dommages au niveau du noyau et du cytoplasme peuvent aussi avoir un rôle. Il ne faut pas oublier non plus que ce modèle cellulaire est très symétrique et que le noyau peut potentiellement se retrouver plus proche de la membrane dans la réalité. Nous voyons par exemple sur la Figure 3.18-A que le maximum de DEF au noyau est trouvé à 65 keV. On peut penser que si cet effet s'ajoute à celui de la membrane, la sous-estimation du modèle constatée à 65 keV (cf. Figure 3.19-C) pourrait être comblée. Cependant, au vu des approximations du modèle de simulation et des incertitudes importantes associées aux résultats expérimentaux, il reste difficile de donner un exemple plus précis de la forme que pourrait prendre la combinaison des effets sur les différents composites cellulaires. La tendance expérimentale n'est probablement pas complètement reproductible ce qui permet de relativiser les légères différences observées avec le DEF à la membrane à 65 keV et en dessous du seuil.

3.4.2.3 Comparaison des cartes de dépôt de dose dans la cellule

Pour compléter l'étude menée dans ce chapitre autour de la géométrie cellulaire, nous nous sommes intéressés finalement à l'hétérogénéité de la dose déposée, liée aux différentes formes du gadolinium. Cela a été fait en étudiant le dépôt de dose en trois dimensions dans le volume d'intérêt. Pour chaque simulation, une matrice de dose de 15 μm de côté composée de $100 \times 100 \times 100$ bins a été calculée. Trois énergies ont été testées pour la comparaison : 31, 52 et 65 keV. Les cartes de doses utilisées dans cet exemple correspondent au plan YZ de la matrice, à $x = 0$, c'est à dire le plan qui passe par le centre de la cellule. Dans chaque cas les cartes de dose dans l'eau ont aussi été calculées afin de les diviser aux cartes de doses en présence de gadolinium et obtenir des cartes de DEF. Ces cartes apportent une information différente et plus locale que le DEF moyen. Les images ont été réalisées avec le code GNU Octave à partir des matrices de doses fournies par PENELOPE. La comparaison des images, pour les trois énergies et des quatre conditions de localisation du gadolinium, peut être trouvée sur la Figure 3.20.

Les images, de gauche à droite, correspondent aux conditions : homogène, lysosomes, NP réparties dans le cytoplasme et NP réparties sur la membrane. Nous avons utilisé une échelle commune logarithmique, allant d'une DEF de 1 à 3, afin de comparer les énergies et les conditions entre elles. L'hétérogénéité de dépôt de la dose est flagrante sur ces images.

Si l'on compare les différentes énergies, on constate que le DEF est globalement le plus faible à 31 keV et le plus élevé à 52 keV, en accord avec les DEF moyens

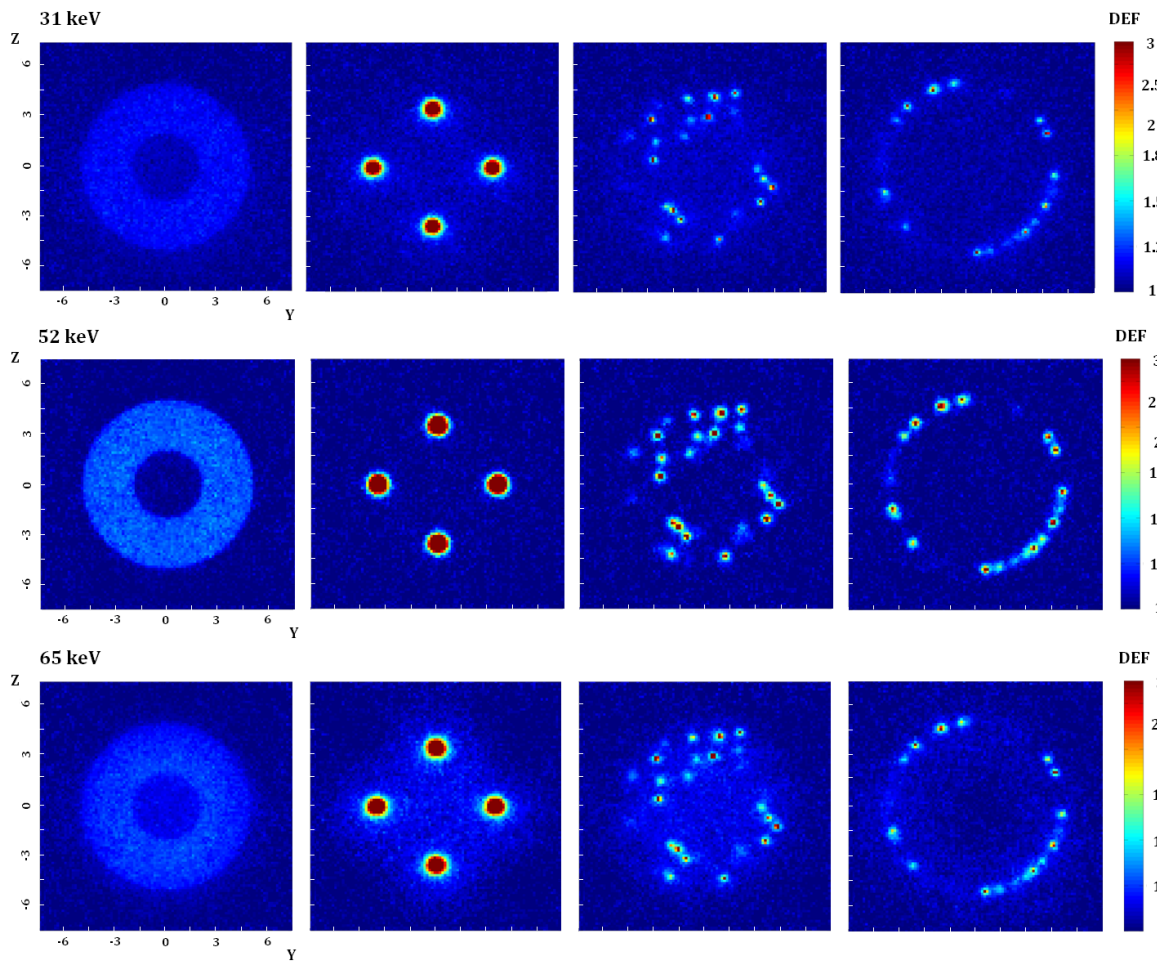


Figure 3.20: Comparaison des cartes de DEF dans le plan YZ, à $x = 0$, pour les énergies 31, 52 et 65 keV et les quatre conditions de localisation du gadolinium : homogène, lysosomes, GdNP internes et sur la membrane

au cytoplasme étudiés en Figure 3.18. La condition qui permet d’obtenir le DEF le plus élevé est celle du gadolinium accumulé dans les lysosomes, avec un DEF allant jusqu’à 100 au centre des lysosomes à 52 keV. Le maximum de dose est bien sûr dans le gadolinium lui même mais on observe néanmoins une diffusion de la dose autour du lysosome. Un DEF supérieur à 3 est observé dans un halo d’environ 700 nm de rayon à partir du centre du lysosome. Cette augmentation très intense à proximité des amas de gadolinium, est due à la forte production d’électrons de basse énergie (< 2 keV), photo-électrons K et électrons Auger et Coster-Krönig issus des cascades de relaxations atomiques. Une telle augmentation de dose pourrait détruire le lysosome, dégât potentiellement létal pour la cellule [Turk 09]. Dans un cas comme celui présenté sur la Figure 3.17-B, il peut aussi se trouver très proche des cibles critiques cellulaires, comme l’ADN nucléaire, et créer des dommages létaux à cause de cette très forte production d’électrons. Cependant, le gradient de DEF à 52 keV est important dans cette zone, le DEF n’étant déjà plus qu’à 1,5 environ 50 nm plus loin (rayon de 750 nm

à partir du centre). Pour les deux autres énergies, mais surtout pour 65 keV, ce gradient est plus faible. À 65 keV on observe par exemple un DEF moins élevé dans les lysosomes (DEF maximum = 40 au centre) avec un DEF supérieur à 3 qui reste dans un halo de 500 nm environ autour du lysosome, mais un DEF supérieur à 1,5 qui s'étend jusqu'à 1 μm .

Cette différence observée sur l'étendue de la diffusion de la dose est principalement due à l'énergie des photo-électrons K produits. À 52 keV, ces électrons sont produits avec une énergie de 1,8 keV (équivalent à une portée de 200 nm environ). À 65 keV, ces électrons sont produits en moins grand nombre qu'à 52 keV, mais avec une énergie de 14,8 keV (portée d'environ 5 μm). Cela explique que l'on puisse observer un DEF supérieur à 1, à plusieurs micromètres des amas de gadolinium.

Les deux configurations en présence de nanoparticules de 100 nm mènent aussi à une augmentation de la dose localement très supérieure au cas homogène. Les phénomènes locaux observés sont les mêmes que pour les lysosomes, à moindre échelle car la quantité de gadolinium est plus faible. Au centre des GdNP, le DEF monte jusqu'à 20 à 52 keV, et jusqu'à 5 et 7 pour 31 et 65 keV respectivement.

Les résultats expérimentaux obtenus donnent un $\text{SER}_{4\text{Gy}}$ maximum à 65 keV. Cela laisse penser que les cibles cellulaires responsables d'un tel effet se trouvent de quelques nanomètres jusqu'à quelques micromètres des nanoparticules. Au sein d'un amas d'atomes de gadolinium, un seul événement K peut entraîner une cascade d'ionisations et de relaxations atomiques, menant à la production d'un grand nombre d'électrons. En effet, en plus du photo-électron K produit après une ionisation, les photons de fluorescence issus des relaxation ont une probabilité non-négligeable d'interagir dans les atomes de gadolinium environnant, ajoutant à la production d'électrons de basse énergie. Ce phénomène en cascade laisse penser qu'un seul événement K pourrait potentiellement créer un dommage létal à la cellule, si la nanoparticule activée se trouve suffisamment proche d'une cible importante.

Dans notre cas expérimental, les nanoparticules étant agglomérées sur la membrane, le dommage létal le plus probable devrait être une destruction locale de la membrane à proximité d'une nanoparticule activée. Nous devons toutefois apporter une nuance à cette remarque, du fait que les nanoparticules simulées sont de diamètre 100 nm alors que celles utilisées dans l'expérience font 2 à 3 nm. Les augmentations de doses locales, observées dans notre modèle des GdNP réparties sur la membrane, devraient être moins intenses si l'on considère des GdNP de 3 nm isolées. Il a cependant été observé sur des images que les nanoparticules pouvaient s'agglomérer par paquets (cf. Figure 2.2.2). Notre approximation faite à 100 nm ne devrait donc pas être trop éloignée du cas expérimental.

3.4.3 Bilan quant à la prise en compte des nanoparticules

Dans cette partie nous avons étudié l'influence de la forme du gadolinium (particulaire ou distribué de manière homogène) sur la dose moyenne aux différents composites

cellulaire et sur les cartes de doses.

Une première étude, faite avec le code Geant4, nous a permis d'étudier différentes tailles de nanoparticules à l'échelle cellulaire pour les trois conditions d'incubation expérimentales. L'observable physique principalement utilisée pour effectuer la comparaison est le DEF moyen, calculé au niveau du cytoplasme. Nous avons montré dans la partie 3.4.1 que la prise en compte des GdNP ne laisse observer que peu de différences avec le cas homogène sur le DEF au cytoplasme. Globalement, les DEF obtenus avec les GdNP sont plus faibles que ceux obtenus dans le cas homogène. Cela a été attribué à l'absorption d'une partie de l'énergie disponible, au sein même des nanoparticules, menant à la diminution de la contribution au cytoplasme. Aucune différence significative n'a pu être observée entre les différentes tailles de GdNP au vu des incertitudes statistiques, à part une légère diminution du DEF avec l'augmentation du diamètre dans le cas des cellules *incubées rincées*. Nous avons pu conclure que le DEF moyen, à l'échelle du cytoplasme, n'était probablement pas une observable adaptée pour représenter la spécificité des nanoparticules et expliquer une l'augmentation expérimentale en présence de celles-ci.

Dans l'ensemble, nous avons été confrontés à des problèmes d'incertitudes statistiques très importantes pour cette étude réalisée avec le code Geant4, malgré des temps de calculs déjà très longs (plusieurs jours par énergie et condition). L'exploitation du code Geant4 pour l'étude d'autres observables physiques, et chimique avec Geant4-DNA, constitue l'une des perspectives principales de ce travail de thèse. Néanmoins, il serait nécessaire de développer un outil de réduction de variance adapté à l'échelle nanométrique.

Dans une deuxième partie nous nous sommes intéressés à l'étude de la forme du gadolinium dans le cas des cellules *incubées rincées* avec une concentration de 2 mg/ml (cf. partie 3.4). Quatre modèles de localisation du gadolinium ont été comparés, basés en partie sur des images de microscopie : cas homogène, amas dans des lysosomes, GdNP réparties dans le cytoplasme et sur la membrane.

Nous avons montré que la membrane est certainement une cible cellulaire privilégiée quant aux dommages responsables de la mort cellulaire observés expérimentalement. En effet, nous avons obtenu une bonne corrélation entre le DEF moyen à la membrane (dans la condition des GdNP réparties sur la membrane) et le SER_{4Gy} (cf. Figure 3.19-C). De plus, l'étude des cartes de DEF en 2D a permis d'observer une augmentation locale très forte à proximité des NP. Nous avons estimé que le dommage létal le plus probable devait être une destruction locale de la membrane, à proximité d'une nanoparticule dans laquelle une interaction photoélectrique en couche K aurait eu lieu.

Ces conclusions sont très intéressantes d'un point de vue radiobiologique. Cependant, les observations faites de l'augmentation de dose locale autour des NP restent qualitatives. Afin de comprendre plus en détails l'amplitude et la portée de cette augmentation locale et les électrons qui sont mis en jeu dans les dommages biologiques, il devient nécessaire de passer à une échelle nanométrique plutôt que micrométrique.

3.5 Bilan général de l'étude cellulaire

Ce chapitre a été consacré à la modélisation, à l'échelle d'une cellule, des phénomènes physiques qui ont lieu en présence de gadolinium. Les expériences réalisées à l'ESRF ont servi de référence tout au long de l'étude.

Les résultats expérimentaux, analysés dans la section 3.2, ont montré une radiosensibilité particulièrement importante pour les cellules incubées 5h avec les GdNP. Un bilan intermédiaire de ces résultats peut être trouvé au paragraphe 3.2.4. Deux hypothèses ont pu être avancées pour expliquer une telle sensibilité aux rayonnements, le résultat observé devant certainement être une combinaison des deux. L'une d'elle est d'ordre biologique. Il a été montré que les GdNP incubées peuvent bloquer le cycle cellulaire dans une phase qui les rend plus radiosensibles. Cet effet devrait être le même quelle que soit l'énergie du rayonnement. Une deuxième, d'ordre physique et responsable des disparités observées entre les énergies, concerne l'augmentation de dose locale très importante au voisinage des GdNP. Cette dernière hypothèse a pu être vérifiée par la simulation, décrite notamment dans la dernière partie de ce chapitre avec l'étude des cartes de doses absorbée dans le plan YZ. En modélisant le cas de nanoparticules réparties aléatoirement sur la membrane (le plus proche du cas expérimental) nous avons montré qu'il existait une bonne corrélation entre le SER_{4Gy} et le DEF calculé à la membrane (cf. paragraphe 3.4.3). Dans l'étude des spectres d'électrons, réalisée avec du gadolinium homogène, nous avons aussi montré que les électrons de haut TEL ne semblaient pas avoir d'influence au niveau du noyau (cf. paragraphe 3.3.5).

Nous estimons donc que la membrane devrait être la cible privilégiée pour expliquer la radiosensibilité observée expérimentalement, à cause de l'augmentation de dose locale autour des GdNP. Cet effet serait combiné à un cumul des dommages sur l'ensemble de la cellule.

Par ailleurs, l'étude réalisée avec le code Geant4 n'a montré aucune différence significative entre les différentes tailles de nanoparticules, la grandeur utilisée étant le DEF moyen calculé au cytoplasme. Deux problèmes ont été mis en évidence. Le premier concerne la difficulté d'obtenir des incertitudes satisfaisantes sur les résultats obtenus avec Geant4 avec des temps de calculs raisonnables. Cela vient principalement du fait qu'il n'y a pas pour l'instant d'outils de réduction de variance adapté à notre application à l'échelle des nanoparticules. Le développement d'un tel outil constituerait une perspective intéressante de ce travail de thèse. Le deuxième point concerne le choix de l'observable, qui semble ne pas être adapté pour observer l'influence locale des nanoparticules et les différences associées à leur taille. L'effet spécifique des GdNP paraît noyé dans le volume de la cellule. Le chapitre 4 est consacré à l'étude plus détaillée de l'effet de « point chaud » associé à l'objet nanoparticule. Le passage à une échelle nanométrique permettra d'observer les électrons de basse énergie en fonction de l'énergie de faisceau et du diamètre des nanoparticules.

Chapitre 4

Résultats : autour de la nanoparticule

Sommaire

4.1	Introduction	125
4.2	Étude des spectres	126
4.2.1	Géométrie utilisée	126
4.2.2	Spectres photons et électrons émis par une NP	127
4.2.3	Évolution en fonction de l'énergie du faisceau	130
4.2.4	Influence de la taille de la nanoparticule	131
4.2.5	Bilan de l'étude des spectres	135
4.3	Dose déposée autour d'une NP à l'échelle nanométrique	136
4.3.1	Géométrie utilisée	136
4.3.2	Profils de dose	136
4.3.3	Étude du DEF en fonction de l'énergie de faisceau	139
4.3.4	Étude du DEF en fonction de la taille de la NP	140
4.3.5	Bilan de l'étude de dose locale	143
4.4	Comparaison avec des données expérimentales	144
4.5	Bilan de l'étude locale autour de la nanoparticule	148

4.1 Introduction

Nous avons vu dans le chapitre précédent que l'échelle cellulaire ne permettait pas de traiter en détail les phénomènes ayant lieu à l'échelle des nanoparticules. Nous avons donc poursuivi l'étude de simulation en descendant à l'échelle du nanomètre. L'objectif a été ici de caractériser le comportement d'une seule nanoparticule sous irradiation à travers l'analyse de différentes grandeurs et en comparant deux matériaux : l'or et le gadolinium. Cela nous a permis de compléter les résultats obtenus dans le chapitre 3 en étudiant plus précisément les GdNP utilisées dans les expériences. La comparaison avec l'or a été faite afin de comparer l'efficacité de ces deux types de nanoparticules, les AuNP étant celles qui ont été le plus étudiées dans la littérature (cf. chapitre 1) et que nous avons utilisées lors de la première année de thèse (cf. section 2.2.4).

Nous nous sommes intéressés à deux observables physiques représentatives de l'effet local des nanoparticules sous irradiation : les spectres de particules secondaires (principalement les électrons) sortant de la NP et la dose déposée dans un rayon de 500 nm autour de celle-ci. Ces deux grandeurs ont été étudiées en fonction de l'énergie du faisceau RX et du diamètre de la nanoparticule.

Le chapitre est divisé en trois parties. Les deux premières sont consacrées à l'étude paramétrique de ces deux grandeurs, avec la simulation Monte Carlo. Dans la dernière partie, nous avons comparé les résultats obtenus autour des nanoparticules d'or, avec des données expérimentales réalisées sur plasmides dans les publications de Brun *et al.* [Brun 09b] et McMahon *et al.* [McMa 11b].

4.2 Étude des spectres

Cette section est consacrée à l'étude des spectres de particules secondaires émises par une NP sous irradiation, en s'intéressant plus particulièrement aux spectres d'électrons. Dans un premier temps, nous avons analysé les spectres individuels au dessus des seuils K de chaque élément. Puis nous avons fait une étude quantitative des spectres d'électrons en fonction de l'énergie d'irradiation et du rayon des nanoparticules, en comparant les variations obtenues pour l'or et le gadolinium. Deux quantités ont été utilisées pour cette analyse : l'énergie moyenne des électrons et la quantité totale d'électrons émis (intégrale du spectre). Nous avons aussi cherché à estimer le taux d'électrons de basse énergie produits en fonction de la taille de nanoparticule. Le seuil considéré ici pour la « basse énergie » est 5 keV, car il correspond à un parcours des électrons dans l'eau inférieur à 1 μm . De plus, les calculs réalisés par Nikjoo *et al.* [Nikj 02, Nikj 10] associent une efficacité biologique relative (EBR) importante à ces électrons (en termes de nombres de CDB créées), allant jusqu'à un facteur 4,5 pour des électrons de 300 eV.

Nous avons couvert une gamme d'énergie d'irradiation allant de 30 keV à 2 MeV pour l'or et de 25 keV à 1,25 MeV pour le gadolinium. Les diamètres ont été choisis dans les deux cas entre 2 et 100 nm. Tous les spectres réalisés dans cette partie ont été construits avec 200 bins en énergie. La « densité de probabilité » mesurée correspond au nombre de particules détectées dans chaque bin, divisé par la largeur du bin (en eV) et par le nombre de photons primaires.

4.2.1 Géométrie utilisée

La géométrie que nous avons utilisée dans PENELOPE pour faire cette étude de spectre est représentée en Figure 4.1.

La nanoparticule sphérique (en violet) est centrée dans le repère et entourée de deux détecteurs virtuels de PENELOPE, de forme cylindrique : un détecteur électrons/positrons d'abord (orange) et détecteur photon ensuite (bleu). Les positrons ne pouvant être créés qu'en faible nombre avec le faisceau de cobalt 60, nous nous intéressons donc surtout aux spectres d'électrons avec le premier détecteur. La trajectoire des particules est stoppée lorsqu'elles sont détectées. Puisque l'on cherche uni-

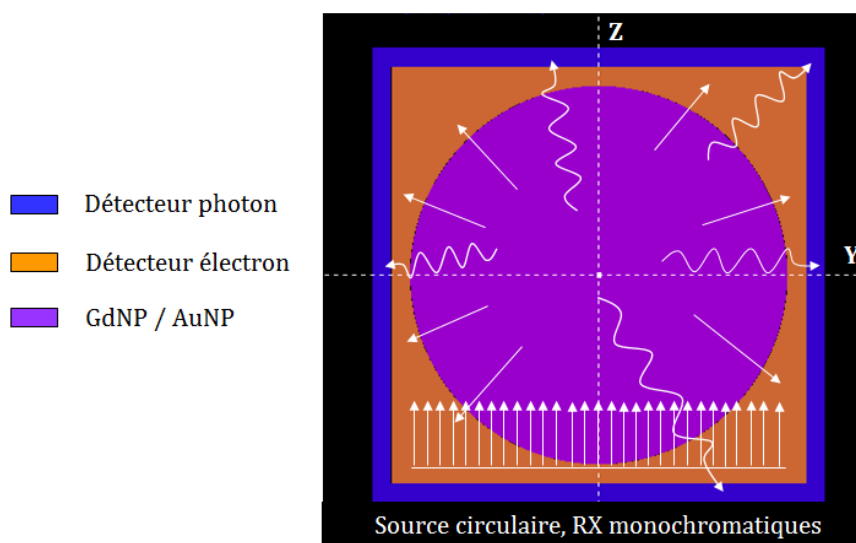


Figure 4.1: Représentation dans le plan YZ de la géométrie de nanoparticule, utilisée pour obtenir les spectres d'électrons et de photons secondaires émis à la sortie de celle-ci lorsqu'elle est irradiée.

quement ici à étudier les particules secondaires créées dans le matériau lourd, la source de photons est placée juste devant la NP, sans atténuation préalable dans un volume d'eau. La source est placée à l'intérieur du détecteur électrons/positrons pour ne pas perturber la mesure. Il s'agit d'une source surfacique de forme circulaire et de même rayon que la nanoparticule étudiée.

4.2.2 Spectres photons et électrons émis par une NP

Dans un premier temps, nous présentons ici un exemple de spectres détaillés, obtenus à la sortie de la nanoparticule. Sur la Figure 4.2, sont reportés les spectres d'électrons (A) et de photons (B) secondaires, associés à une AuNP de 100 nm de diamètre irradiée avec un faisceau RX de 85 keV (au dessus du seuil K de l'or : 80,7 keV). Nous avons comparé sur le même graphique les spectres de particules secondaires émises si l'on considère la nanoparticule remplie d'eau. Les spectres ont été détectés entre une énergie minimale de 1 keV et l'énergie maximale du faisceau, 85 keV.

En comparant les spectres de l'eau par rapport à ceux de l'or, nous observons une très grande différence de production des rayonnements secondaires à la sortie de la nanoparticule. Pour le spectre d'électrons, celui de l'or est supérieur à l'eau d'un facteur 10 à 10^9 selon l'énergie du spectre observée. Avec cette constatation, nous comprenons aisément que cela puisse mener à une augmentation de dose très importante à proximité des nanoparticules lourdes, comme nous l'avons observé à une échelle supérieure dans le chapitre précédent (cf. Figure 3.20).

Dans l'eau, l'interaction principale des photons est la diffusion Compton. Nous n'observons pas de raies caractéristiques de relaxation liées aux interactions

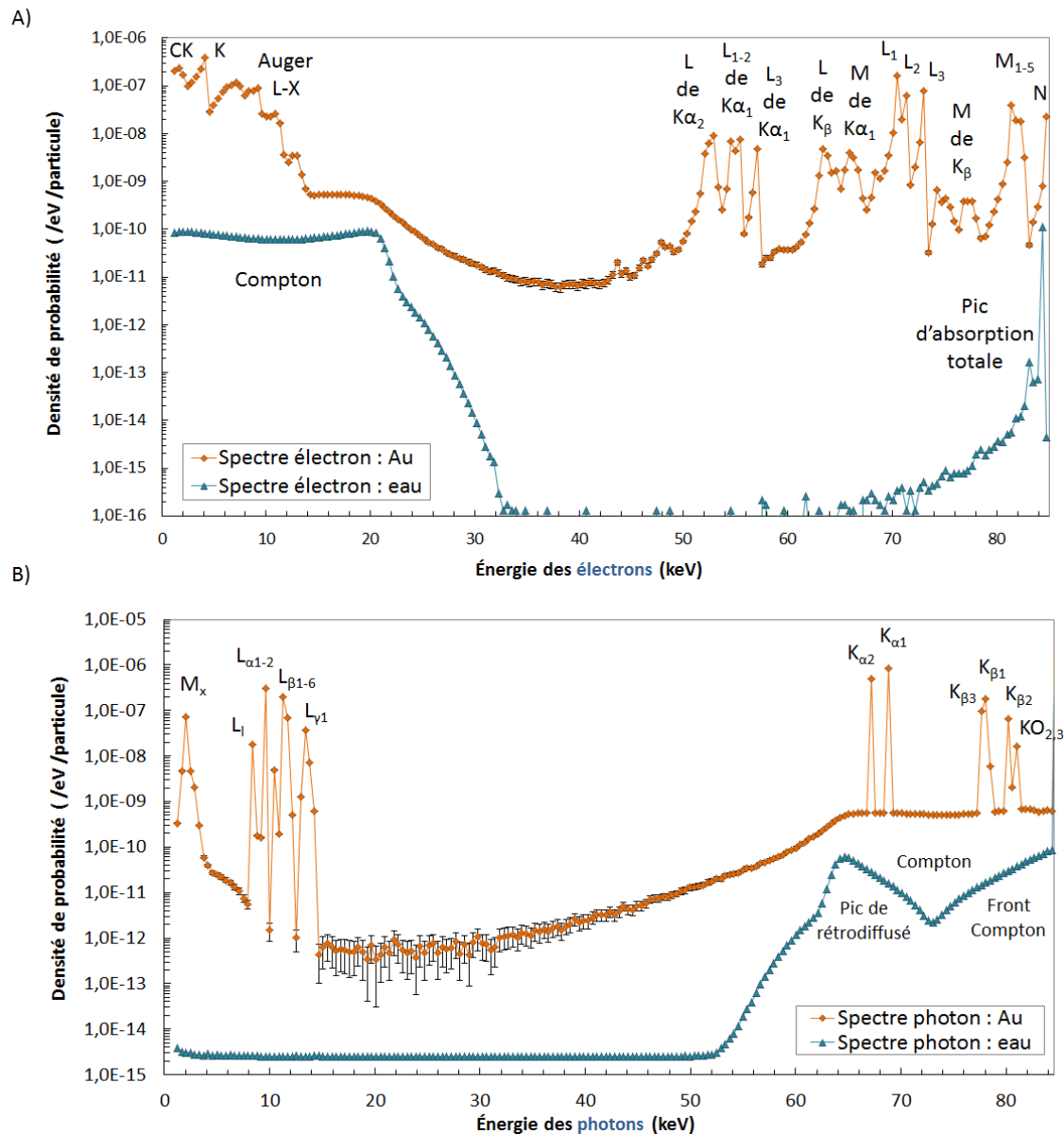


Figure 4.2: Comparaison des spectres d'électrons (A) et de photons (B) pour une nanoparticule de 100 nm de diamètre remplie d'or ou d'eau. L'énergie d'irradiation est de 85 keV.

photoélectriques des photons sur les molécules d'eau car leurs énergies sont trop faibles pour être détectées sur ce spectre. Dans l'or, c'est l'interaction photoélectrique en couche K qui est la plus probable. À partir des tables d'émission de fluorescence (cf. Table A.4) et des énergies de liaison (cf. Table A.2), nous avons pu retrouver les raies caractéristiques propres à l'atome d'or. Par ailleurs, la nomenclature utilisée pour associer la désignation classique des raies de fluorescences et la transition atomique mise en jeu peut être trouvée en annexe A.1.5. Les électrons détectés en plus grand nombre sont les photo-électrons K, produits à 4,3 keV, et les électrons Coster-Krönig produits à des énergies inférieures. En plus des productions caractéristiques d'électrons

provenant des interactions photoélectriques des photons primaires, nous observons aussi sur le spectre d'électrons l'influence des émissions de fluorescence. En effet, après une ionisation en couche K, l'atome d'or a une probabilité de 96 % de donner lieu à une relaxation radiative. Les raies K_α et K_β étant les plus probables (94 % des émissions), leur contribution dans la production d'électrons secondaires n'est pas négligeable. Nous observons donc sur le spectre les photo-électrons L et M issus de l'interaction photoélectrique de ces photons de fluorescence sur les atomes d'or voisins, ainsi que les électrons Auger issus des relaxations qui s'ensuivent.

Des spectres équivalents ont pu être obtenus pour le gadolinium. Un exemple de ces spectres, résultats de l'irradiation d'une GdNP de 10 nm de diamètre à 52 keV, peut être trouvé en annexe B.1.2. L'analyse des raies caractéristiques diffère peu de celle faite précédemment pour l'or car nous nous plaçons aussi au dessus du seuil K de l'atome de gadolinium (50,2 keV).

Nous avons vu dans la section 2.2.1 que les nanoparticules de gadolinium n'étaient pas faites seulement de gadolinium mais d'un mélange de deux atomes de silicium pour un atome de gadolinium (en ne considérant que les atomes les plus lourds). Dans notre étude, les NP ont toujours été assimilées à du gadolinium pur. Afin de vérifier les différences obtenues en prenant en compte les deux atomes de silicium, nous avons comparé les spectres d'électrons pour une NP de 10 nm de diamètre, remplie de gadolinium et une remplie d'un mélange de $GdSi_2$. Le spectre a été fait ici pour des énergies d'électrons entre 100 eV et 52 keV. Les deux spectres peuvent être trouvés en Figure 4.3.

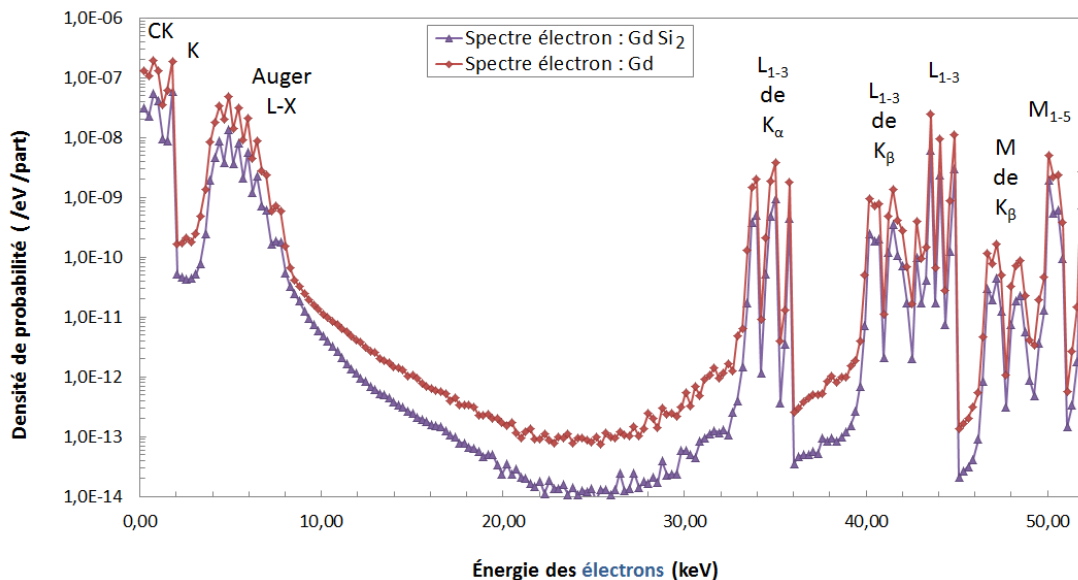


Figure 4.3: Comparaison des spectres d'électrons secondaires obtenus en irradiant, à 52 keV, une nanoparticule de 10 nm de diamètre remplie uniquement de gadolinium ou d'un mélange de deux atomes de silicium pour un de gadolinium.

À part la diminution d'intensité du spectre, due à la différence du numéro

atomique moyen et de la densité des deux matériaux, nous ne voyons apparaître aucune différence caractéristique propre au silicium. Les interactions avec les atomes de gadolinium dominent celles avec le silicium, comme nous pouvons le retrouver en comparant les coefficients d'atténuation massique. La perte d'intensité du spectre n'est pas un problème dans la considération macroscopique des nanoparticules puisque les expériences ont été faites pour une concentration en gadolinium donnée.

Ces analyses montrent en tout cas que PENELOPE prend bien en compte la relaxation atomique dans la simulation et les interactions par couche et sous-couche atomiques, ce qui est primordial pour notre application. Une analyse quantitative des spectres peut maintenant être faite, afin de comparer les résultats obtenus en fonction de l'énergie de faisceau et de la taille de nanoparticule. Dans la suite, nous avons uniquement analysé les spectres d'électrons pour l'or et le gadolinium.

4.2.3 Évolution en fonction de l'énergie du faisceau

Commençons par l'étude de l'évolution des spectres d'électrons en fonction de l'énergie du faisceau d'irradiation RX. Comme cela a été introduit précédemment, deux quantités ont été utilisées pour la comparaison des spectres entre l'or et le gadolinium. Il s'agit de la quantité totale des électrons détectés (intégrale du spectre) et de leur énergie moyenne. Pour cette comparaison, tous les spectres ont été déterminés pour des énergies allant de 100 eV à l'énergie maximale, c'est à dire celle du faisceau. Nous avons couvert une gamme d'énergie d'irradiation RX allant de 30 keV à 2 MeV pour l'or et de 25 keV à 1,25 MeV pour le gadolinium (énergies utilisées dans les expériences), avec une précision plus importante autour des seuils K des éléments. Le diamètre de la nanoparticule utilisé pour cette étude est 10 nm. Les résultats de cette étude peuvent être trouvés en Figure 4.4.

Nous observons une diminution globale de la quantité d'électrons détectés en fonction de l'énergie d'irradiation, avec une augmentation locale au niveau du seuil K de chaque élément. La quantité d'électrons produits dans l'or est plus importante d'un facteur 4 environ par rapport à ceux produits dans le gadolinium, sauf après le seuil K de ce dernier. Cette tendance est similaire à celle observée pour les coefficients d'atténuation massique (cf. Figure 2.6). Nous pouvons remarquer que le seuil K du gadolinium est légèrement plus marqué (augmentation d'un facteur 5 de part et d'autre du seuil) que celui de l'or (facteur 3,5).

La diminution de la quantité d'électrons détectés s'accompagne d'une augmentation globale de leur énergie moyenne, avec une diminution locale au niveau du seuil K de chaque élément, lié à la production en masse des photo-électrons K. L'augmentation globale est identique pour les deux éléments, mais nous observons ici aussi un seuil K plus marqué pour le gadolinium que pour l'or. L'énergie moyenne est trouvée à 4,6 keV (parcours dans l'eau d'environ 900 nm) juste après le seuil K du gadolinium et à 8 keV (parcours dans l'eau d'environ 2 μ m) après celui de l'or.

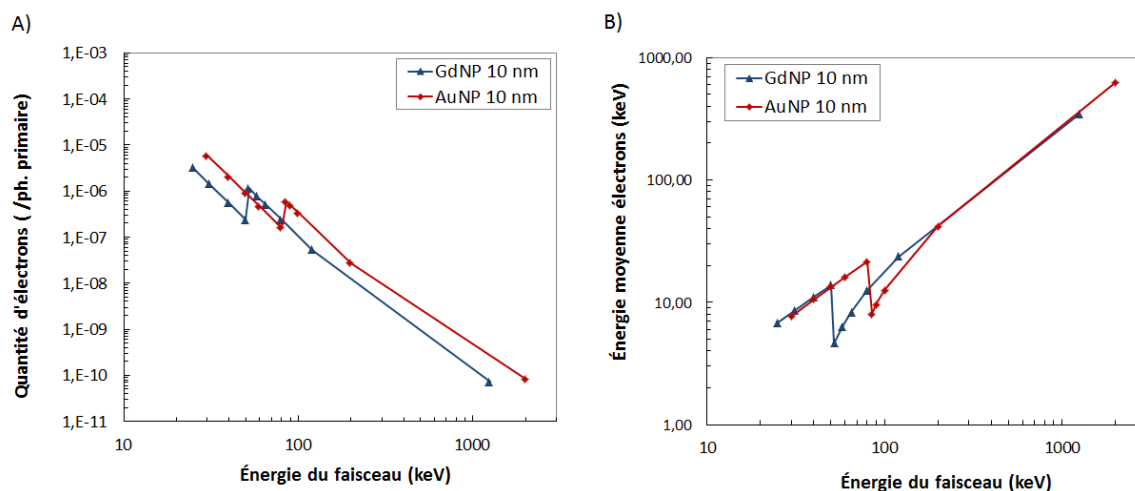


Figure 4.4: Comparaison des quantités d'électrons détectés (A) et de leurs énergies moyennes (B) lors de l'irradiation d'une GdNP ou AuNP de 10 nm de diamètre.

Ces deux tendances sont donc à considérer dans un but d'optimisation thérapeutique en fonction de l'énergie de faisceau et du matériau. Pour augmenter la quantité d'électrons produits dans une nanoparticule il est préférable de se placer au niveau du seuil K des éléments. En fait, il vaut même mieux se placer à des énergies inférieures à 30 keV pour produire plus d'électrons mais ces énergies sont moins intéressantes d'un point de vue thérapeutique car les faisceaux ne pénètrent pas profondément dans les tissus. En termes d'énergie moyenne des électrons produits, il vaut mieux se placer juste après le seuil K des éléments si l'objectif est d'obtenir un dépôt d'énergie plus intense mais de courte portée. Cette optimisation va dépendre de la cible cellulaire visée et de la localisation des nanoparticules. En se plaçant au niveau du seuil K de chaque élément, nous voyons que la quantité d'électrons produits est plus importante, et leur énergie moyenne plus faible, pour le gadolinium que pour l'or. La stratégie thérapeutique va dépendre néanmoins de la profondeur de la tumeur. Dans le crâne par exemple, il vaut mieux utiliser une énergie plus importante pour épargner le tissu cérébral sain et l'os sur le trajet du faisceau. De ce point de vue, l'or semble plus adapté car le seuil K est de plus haute énergie.

4.2.4 Influence de la taille de la nanoparticule

Dans un deuxième temps, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'évolution des spectres d'électrons en fonction de la taille des nanoparticules. C'est en effet à une échelle nanométrique que les différences entre les tailles devraient être le plus visibles. Les tailles de nanoparticules étudiées s'étendent, pour les deux matériaux, entre 2 et 100 nm de diamètre. Tous les spectres ont été obtenus entre une énergie minimale de 100 eV et l'énergie maximale du faisceau.

Nous pouvons trouver, sur la Figure 4.5, un exemple des spectres d'électrons obtenus en fonction du diamètre d'une nanoparticule de gadolinium, à une énergie d'irradiation de 55 keV. Un autre exemple fait à 85 keV peut être trouvé en annexe B.1.3.

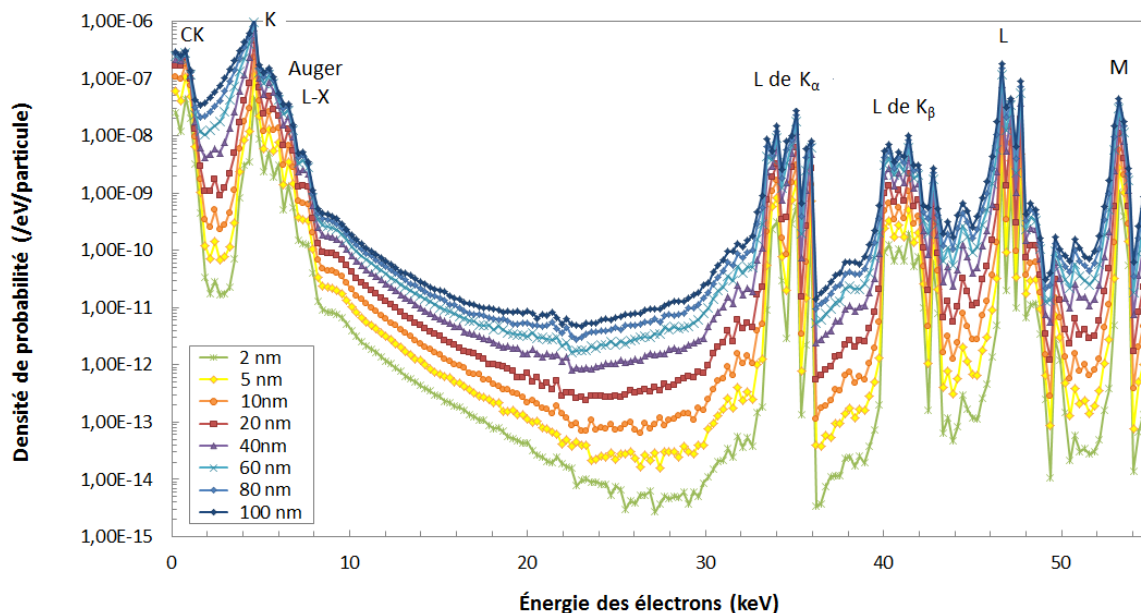


Figure 4.5: Comparaison des spectres d'électrons obtenus lors de l'irradiation d'une GdNP à 55 keV, en fonction du diamètre de cette dernière (de 2 nm à 100 nm).

Nous voyons clairement l'influence de la taille de la nanoparticule sur les spectres d'électrons. Les spectres sont d'autant plus intenses que le diamètre de la GdNP augmente. Cela est lié à l'augmentation de la quantité d'atomes de gadolinium, lorsque l'on augmente la taille de la NP, car les spectres n'ont pas été normalisés par rapport à la masse de gadolinium dans cet exemple. Cependant nous pouvons aussi remarquer que la différence entre les tailles de NP est plus marquée dans les zones « inter-pics » qu'au niveau des pics. Nous observons ici une augmentation de la largeur des pics caractéristiques avec l'augmentation du diamètre, liée à une diffusion des électrons dans la NP avant détection.

De la même manière que dans l'étude en fonction de l'énergie de faisceau, la quantité d'électrons produits et l'énergie moyenne du spectre ont été utilisées pour une comparaison quantitative entre l'or et le gadolinium. L'utilisation d'une troisième quantité a permis d'étudier l'absorption des électrons de plus basse énergie pour les différents diamètres. Il s'agit du taux d'électrons de basse énergie (< 5 keV). Cette dernière quantité a été estimée en faisant le rapport de la somme des contenus des bins inférieurs à 5 keV sur la somme totale. Elle est exprimée en pourcentage dans les résultats. Le seuil de « basse énergie » à 5 keV a été fixé afin de considérer des

électrons de haut TEL [Nikj 02, Nikj 10] ayant un parcours dans l'eau inférieur au micromètre.

Puisque nous ne pouvons pas comparer l'or et le gadolinium à énergie égale, en termes de couches atomiques préférentiellement ionisées, nous avons choisi de faire cette étude pour trois énergies de faisceau : 30, 55 et 85 keV. Cette sélection a été faite pour avoir une énergie non-spécifique pour les deux matériaux (30 keV) et deux énergies au dessus du seuil K du gadolinium (55 keV) et de l'or (85 keV). L'ensemble des résultats obtenus pour les trois quantités, les trois énergies de faisceau et les deux éléments ont été regroupés dans l'annexe B.1.4. Cependant, nous nous focaliserons dans ce chapitre sur l'analyse du gadolinium et de l'or, pour les énergies au dessus de leur seuil K respectifs. De cette manière, nous pouvons comparer les éléments avec les mêmes processus physiques de relaxation et des photo-électrons K produits avec une énergie similaire (environ 4,5 keV).

La Figure 4.6 regroupe l'étude de la quantité d'électrons détectés (A), de leur énergie moyenne (B) et du taux d'électrons de basse énergie (C) en fonction du rayon de la NP. Cette dernière a été irradiée à une énergie de faisceau de 55 keV pour le gadolinium et 85 keV pour l'or.

Dans cette étude, les quantités d'électrons détectées ont été normalisées par rapport à la masse des nanoparticules et par rapport au nombre de photons incidents traversant ces dernières. Cette normalisation est plus juste si l'on s'intéresse à un aspect macroscopique de l'influence de la taille des nanoparticules, dans un milieu où la concentration en termes d'atomes de gadolinium (ou d'or) reste constante. Cette méthode a aussi été utilisée par Chow *et al.* [Chow 12] pour une étude similaire sur des nanoparticules d'or.

Après normalisation, nous observons une légère diminution de la quantité d'électrons produits avec l'augmentation de la taille de la NP. À masse égale, nous avons environ deux fois moins d'électrons détectés en passant d'un rayon de NP de 1 nm à celui de 50 nm. Cette tendance similaire pour les deux matériaux est causée par une plus grande absorption des électrons dans la NP pour les plus gros rayons. Une augmentation d'un facteur 3,2 à 3,7 (selon le rayon) peut être observée entre la quantité d'électrons détectés à la sortie d'une GdNP par rapport à une AuNP. Ceci est certainement dû à la différence des énergies de faisceau utilisées, le rapport des coefficients d'absorption massiques entre le gadolinium (à 55 keV) et l'or (à 85 keV) étant égal à 2 (cf. Figure 2.6). De plus, les photo-électrons K produits sont plus absorbés dans l'or que dans le gadolinium, limitant d'autant plus la détection à la surface de la NP.

Une autre manifestation de l'absorption des électrons par les plus grosses nanoparticules est visible sur la Figure 4.6-B. Nous remarquons en effet que l'énergie moyenne des électrons augmente avec la taille de la nanoparticule. Cela montre que la diminution observée en Figure 4.6-A est bien liée à une perte de la partie basse du spectre d'électrons à l'intérieur de la NP lorsque le rayon augmente. L'énergie des électrons produits est globalement plus importante pour une AuNP (avec une moyenne de 8

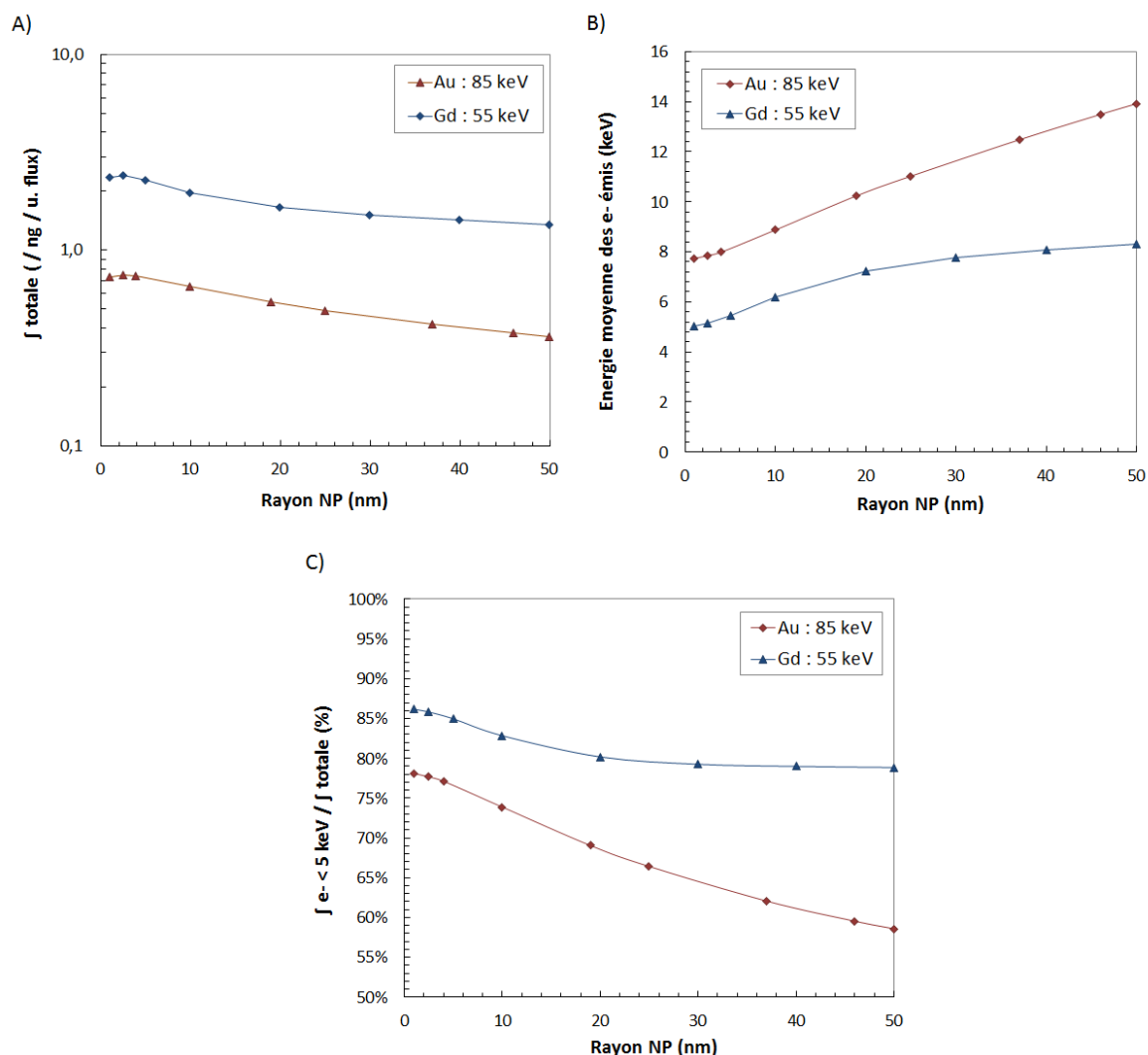


Figure 4.6: Étude de la quantité d'électrons produits (A), de leur énergie moyenne (B) et du taux d'électrons de basse énergie (C) en fonction du rayon de la NP. GdNP : irradiation à 55 keV. AuNP : irradiation à 85 keV.

à 14 keV) que pour une GdNP (moyenne de 5 à 8 keV). Il semble que les électrons pouvant être absorbés dans une GdNP de 50 nm de rayon, le sont déjà en majeure partie dans une GdNP de 20 nm. L'effet est visible à cause d'une saturation de l'énergie moyenne au delà de ce rayon pour le gadolinium, ce qui n'est pas le cas pour l'or.

Cependant, malgré cette auto-absorption évidente de la partie basse du spectre, nous pouvons remarquer sur la Figure 4.6-C que les électrons d'énergie inférieure à 5 keV constituent encore la majorité des électrons détectés, avec un minimum de 59 % dans le cas d'une AuNP de 50 nm de rayon. Cette partie du spectre inclut principalement les photo-électrons K (énergie moyenne de 4,5 keV), mais aussi les électrons Auger et Coster-Krönig d'énergie cinétique suffisamment grande pour atteindre la surface des NP.

Cet aspect est particulièrement important si l'on s'intéresse à la portée du dépôt d'énergie dû à ces électrons. Dans le cas d'une GdNP de 1 nm de rayon par exemple, 86 % de l'énergie disponible devrait être déposée dans un rayon de 1 μm si la nanoparticule est entourée d'eau. Ces proportions diminuent peu en augmentant le rayon de la GdNP, avec un minimum de 79 % à 50 nm. L'influence du rayon de la nanoparticule est plus marquée pour l'or, puisque cette proportion passe de 78 % à 59 % du plus petit au plus grand rayon. Les nanoparticules semblent agir comme des sources secondaires, capables de diffuser localement l'énergie disponible après interaction du faisceau primaire. L'influence du rayon des nanoparticules et de l'énergie de faisceau sur la dose locale sera étudiée dans la partie 4.3.

4.2.5 Bilan de l'étude des spectres

Dans cette partie, nous nous sommes intéressés aux spectres d'électrons secondaires sortant d'une nanoparticule d'or ou de gadolinium. Nous avons vérifié dans un premier temps que le code PENELOPE prenait bien en compte la relaxation atomique et les interactions par couche et sous-couche atomiques. L'influence de l'énergie du faisceau d'irradiation RX et de la taille de la nanoparticule sur les spectres d'électrons ont ensuite été étudiées.

L'analyse en fonction de l'énergie de faisceau a mis en évidence une diminution globale de la quantité d'électrons détectés avec l'énergie de faisceau, avec des augmentations locales juste après les seuils K des deux éléments. Cette tendance s'accompagne d'une augmentation de l'énergie moyenne des spectres d'électrons, avec une importante diminution après les seuils, marquant la production des photo-électrons K. En se plaçant aux énergies des seuils de chacun des éléments, nous avons pu remarquer que l'irradiation d'une GdNP causait une production d'électrons plus importante qu'une AuNP et que ces électrons étaient de plus faible énergie.

L'influence du rayon de la nanoparticule a été étudiée en utilisant des énergies de faisceau RX différentes, choisies au dessus du seuil K de chaque élément : 55 keV pour le gadolinium et 85 keV pour l'or. Les quantités d'électrons détectés ont été normalisées par rapport à la masse des NP et au flux de photons les traversant. Un facteur d'augmentation de 3,5 environ a été trouvé pour la production d'électrons dans une GdNP par rapport à une AuNP. Nous avons montré qu'une partie des électrons de basse énergie était absorbée dans la NP avant détection et que cette part augmentait d'un facteur deux environ entre une NP de 1 nm de rayon et une de 50 nm. Malgré cette auto-absorption, les spectres sont majoritairement constitués d'électrons d'énergie inférieure à 5 keV. Pour une GdNP de 1 nm de rayon par exemple, nous avons calculé que 86 % des électrons émis étaient d'énergie inférieure à 5 keV. Si la NP est entourée d'eau, de tels électrons devraient déposer leur énergie dans un rayon maximal de 1 μm autour de celle-ci.

Il est difficile à partir de ces résultats de raisonner en terme d'efficacité biologique car nous ne pouvons pas faire d'équivalence directe entre les électrons secondaires

produits et l'augmentation de dose. Cependant, nous pouvons conclure que pour maximiser la production d'électrons de basse énergie, il semble plus efficace d'utiliser des nanoparticules de gadolinium de petites tailles, avec une énergie de faisceau supérieure au seuil K (55 keV par exemple). Ainsi, si nous supposons que ces électrons de haut TEL sont responsables de dégâts biologiques importants, cette forte production d'électrons pourrait s'accompagner d'une efficacité thérapeutique conséquente. Cette dernière hypothèse de cause à effet n'est cependant pas évidente à démontrer au vu des arguments et moyens dont nous disposons.

Dans la section suivante, nous avons étudié la dose déposée localement par ces particules secondaires. Nous verrons que des informations complémentaires pourront être apportées par rapport à cette analyse de spectres.

4.3 Dose déposée autour d'une NP à l'échelle nanométrique

Après avoir étudié l'énergie et le nombre des particules secondaires produites dans des NP d'or et de gadolinium, nous nous sommes ensuite intéressés à l'énergie qu'elles déposent. Pour cela, nous avons analysé la dose déposée dans l'eau, dans un rayon de 500 nm autour de la NP. Ce que nous appelons donc ici la « dose locale » correspond à une échelle nanométrique, mieux adaptée pour l'analyse d'une seule NP que l'échelle cellulaire. Comme dans la section précédente, nous avons étudié cette grandeur en fonction de l'énergie de faisceau et de la taille de la nanoparticule. La gamme couverte est identique à celle de la section 4.2.

4.3.1 Géométrie utilisée

La dose locale a été étudiée à partir de la géométrie représentée en Figure 4.7.

La nanoparticule sphérique (en violet) est centrée dans le repère et entourée d'un volume d'eau sphérique (orange) de 500 nm de rayon. Puisque nous cherchons à étudier la dose déposée par les particules secondaires, créées dans le matériau lourd, la source de photons est placée juste devant la NP. Comme dans l'étude des spectres, il s'agit d'une source surfacique de forme circulaire et de même rayon que la nanoparticule étudiée. Les photons se propagent selon l'axe Z sans divergence. Au terme de la simulation, plusieurs quantités sont récoltées : la dose moyenne dans la sphère d'eau de 500 nm et une grille de dose sur tout le volume. La grille est calculée sur un cube d'un micromètre de côté avec une taille de voxel de 10 nm.

4.3.2 Profils de dose

Afin de visualiser l'influence que peut avoir une nanoparticule sur le dépôt d'énergie à l'échelle nanométrique, nous avons d'abord représenté en Figure 4.8 un exemple de

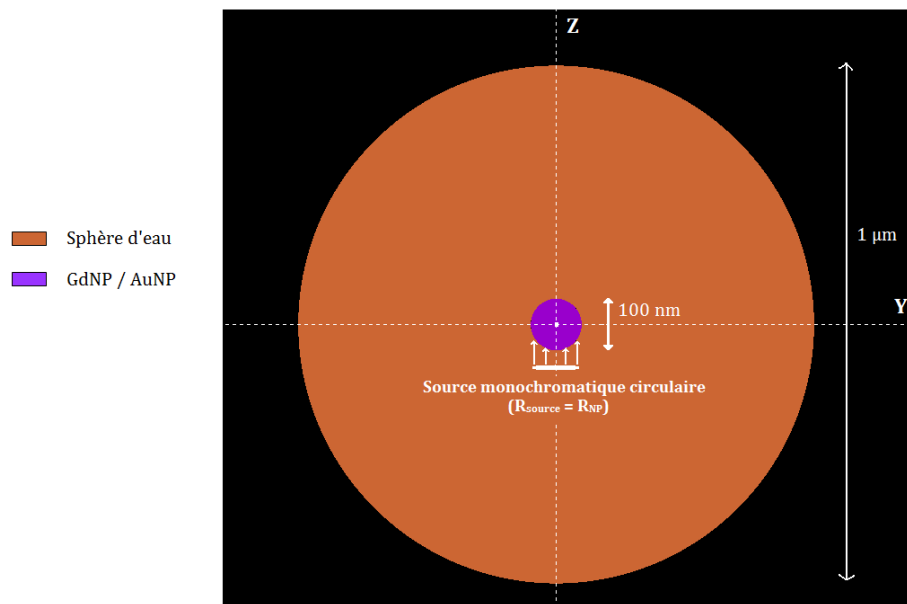


Figure 4.7: Représentation dans le plan YZ de la géométrie de nanoparticule, utilisée pour obtenir la dose déposée dans un rayon de 500 nm autour de celle-ci.

profil de dose caractéristique de cette influence. Les deux profils ont été obtenus en irradiant à 85 keV une NP de 50 nm de rayon, remplie d'or ou d'eau. Il s'agit de profils de dose le long de l'axe du faisceau, l'axe Z ($X = Y = 0$). La dose est exprimée en mGy.

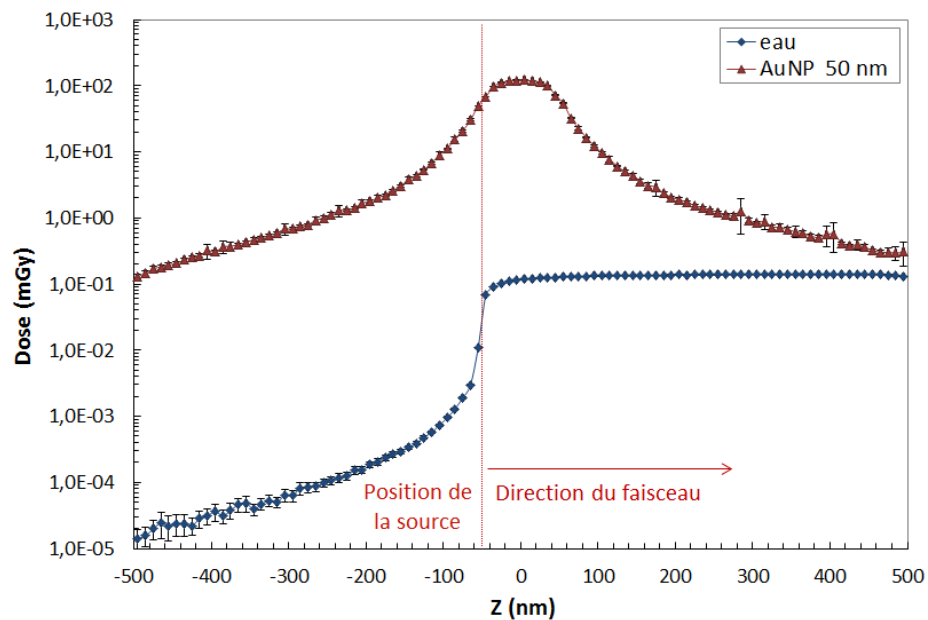


Figure 4.8: Exemple de profil de dose selon l'axe du faisceau (Z) pour une NP de 50 nm de rayon, remplie d'or ou d'eau.

Cet exemple permet de voir à quel point la présence d'une NP modifie le dépôt de la dose à l'échelle observée. Non seulement la dose est considérablement augmentée à proximité de la NP, mais la localisation spatiale du dépôt est aussi fortement modifiée. Alors que dans l'eau, la dose est maximale et régulière dans la trace du faisceau de photons, en présence d'une AuNP nous observons une symétrie quasi-parfaite du dépôt autour de la NP. Au niveau de la nanoparticule, la dose est augmentée de trois ordres de grandeurs par rapport à l'eau mais décroît très rapidement avec la distance, pour rejoindre quasiment celle de l'eau (en Z positif) à 500 nm du centre de la NP. La différence la plus importante est observée pour la dose déposée en dehors du faisceau (Z négatif). Celle-ci est augmentée de quatre ordres de grandeur en présence de la AuNP, sur toute la distance observée (500 nm). Il faut bien noter que cette augmentation, extrêmement importante et régulière, est causée par un biais lié à la position de la source, placée juste avant la nanoparticule. Si nous avions irradié l'ensemble de la sphère (avec une source placée à $Z = -500$ nm) le profil observé selon les Z négatifs devrait être semblable à celui des Z positifs et le DEF global devrait être d'amplitude inférieure. L'utilisation d'une telle géométrie a l'avantage de permettre la visualisation de la spécificité de la nanoparticule à agir comme une source secondaire d'irradiation émettant de manière isotrope. Nous pouvons considérer pour la suite, ce qui est appelé la « dose hors-champ », comme l'effet qu'aurait une nanoparticule en tant que source secondaire, sans l'effet cumulé du faisceau primaire.

La Figure 4.9 permet de visualiser, avec une dimension de plus, la dissymétrie du dépôt de dose induite par la présence de la AuNP. Sur cette figure sont représentées les cartes de doses dans le plan XZ avec une NP remplie d'eau (A) et d'or (B). La même échelle de couleur a été utilisée pour l'eau et l'or.

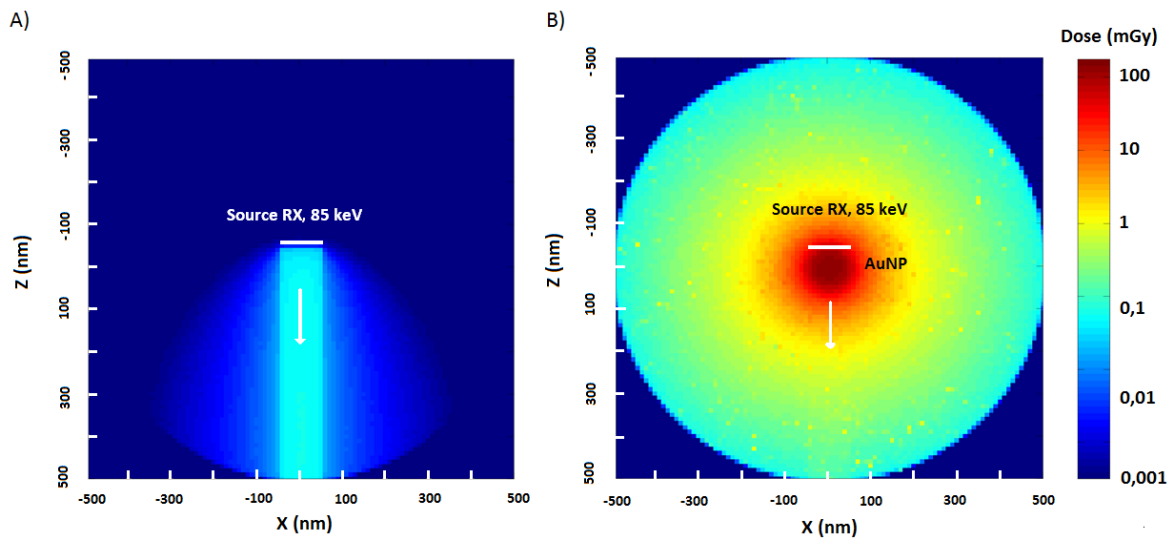


Figure 4.9: Profil de dose dans le plan XZ dans le cas d'une NP de 50 nm de rayon centrale remplie d'eau (A) et remplie d'or (B).

En comparant ces deux images, nous voyons que la diffusion de la dose locale est quasiment identique dans toutes les directions en présence d'une AuNP alors qu'il n'est observé qu'une faible diffusion latérale autour du faisceau sans NP. Comme cela a été dit précédemment, nous voyons que les nanoparticules agissent comme des sources secondaires d'irradiation, sources capables d'augmenter la dose locale de plusieurs ordres de grandeurs et de la répartir de façon isotrope. Nous voyons aussi que le gradient de dose est très important autour de la AuNP. En seulement 500 nm de distance radiale, la dose absorbée passe de la centaine de mGy au dixième de mGy. Ces observations sont une manifestation, en terme de dose déposée, de la forte production d'électrons de basse énergie observée en Figure 4.6-C. La direction d'émission des photo-électrons étant d'autant plus alignée sur la direction du photon initial que celui-ci est énergétique, l'isotropie observée devrait être moins marquée en augmentant l'énergie de faisceau. Cela a été vérifié dans l'étude suivante, dans laquelle nous avons observé une dissymétrie plus importante pour le faisceau de cobalt 60.

Cette singularité locale liée à la présence d'une NP a été étudiée dans la suite, avec la comparaison de l'or et du gadolinium pour différentes énergies de faisceau et tailles de NP.

4.3.3 Étude du DEF en fonction de l'énergie de faisceau

Dans un premier temps, l'évolution de la dose locale a été étudiée en faisant varier l'énergie du faisceau de photons. Les énergies utilisées sont les mêmes que dans la section 4.2.3 mais, à la différence de cette première étude, les simulations ont été réalisées avec une nanoparticule de 50 nm de rayon. Suivant la même démarche que dans le chapitre 3, nous avons cherché à mettre en valeur l'apport supplémentaire des nanoparticules par rapport à l'eau. Les résultats sont donc présentés en termes de DEF et non de dose. Le DEF correspond ici au rapport de la dose absorbée dans la sphère d'eau de 500 nm en présence d'une GdNP (ou AuNP) sur la dose absorbée sans matériau lourd (NP remplie d'eau).

Le DEF a été étudié sous deux formes : celle de profils obtenus selon différents axes de la grille de dose et celle du DEF moyen obtenu sur l'ensemble de la sphère d'eau. Au vu du nombre d'énergies étudiées (dix pour le gadolinium, quinze pour l'or), nous avons seulement analysé les DEF moyens dans ce chapitre pour plus de clarté vis-à-vis de la comparaison des deux matériaux. Cependant, les profils de DEF calculés pour une GdNP peuvent être trouvés en annexe B.2.1. Le résultat obtenu en terme de DEF sur l'ensemble de la sphère d'eau est représenté en Figure 4.10.

Nous retrouvons ici la même tendance que lors de la comparaison de la quantité d'électrons détectés à la sortie d'une NP (cf. Figure 4.4-A). Le DEF moyen décroît globalement lorsque l'énergie du faisceau augmente et marque une discontinuité importante au passage du seuil K, suivant ainsi le rapport des coefficients d'atténuation. Globalement, l'effet est plus important pour l'or que pour le gadolinium (d'un facteur

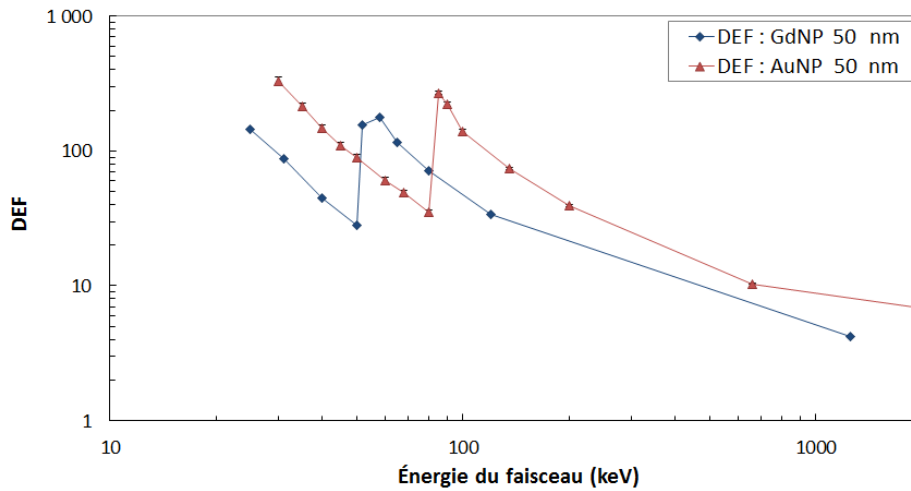


Figure 4.10: DEF calculé dans la sphère d'eau en fonction de l'énergie du faisceau de photons. Comparaison de AuNP et GdNP de 50 nm de rayon.

3 à 4, dû à la différence des masses des matériaux lourds présents), sauf entre 52 et 80 keV, énergies pour lesquelles le gadolinium cause un DEF supérieur (d'un facteur 2 à 3).

En présence d'une NP de 50 nm, nous avons obtenu des DEF atteignant une valeur de 170 pour le gadolinium et 270 pour l'or au niveau des seuils K. Même en moyennant le DEF sur l'ensemble de la sphère de 500 nm, nous voyons que l'augmentation de dose est extrêmement importante au voisinage de la NP. Cela permet de quantifier plus précisément l'effet de « point chaud » discuté dans le chapitre précédent pour justifier de la radiosensibilisation expérimentale associée aux GdNP (cf. section 3.4.3).

La Figure B.5 reportée en annexe, permet de visualiser la variation du gradient de dose au sein de la sphère en fonction de l'énergie du faisceau. On peut y voir, notamment, que le DEF hors-champ est constant de la surface de la NP à celle de la sphère d'eau et que le DEF dans le champ décroît par contre très rapidement lorsqu'on s'éloigne de la NP. Cependant, ces profils n'apportent pas beaucoup plus d'information que le DEF moyen quant à l'influence de l'énergie du faisceau.

4.3.4 Étude du DEF en fonction de la taille de la NP

Pour cette deuxième étude paramétrique concernant l'évolution de la dose locale, nous avons cette fois fait varier la taille de la nanoparticule. Les rayons utilisés sont identiques à ceux de la section 4.2.4. Pour la même raison que celle explicitée dans l'étude des spectres, nous avons comparé l'or et le gadolinium avec deux énergies différentes, correspondant aux seuils K de chacun des éléments (55 keV et 85 keV).

Comme précédemment, nous avons utilisé le DEF sous deux formes, les profils et les DEF moyens obtenus dans la sphère d'eau. Intéressons-nous dans un premier temps à

l'analyse du DEF moyen, en comparant le gadolinium et l'or. Pour cette analyse, nous avons choisi d'utiliser un DEF relatif par rapport aux NP de 50 nm de rayon, afin de comparer l'influence du rayon en s'affranchissant de la masse de la NP et du flux de photons la traversant (méthode utilisée dans la publication de Chow *et al.* [Chow 12]). Appelons m_i , les coefficients relatifs à la masse d'une NP de rayon i , et f_i , les coefficients relatifs au flux de photons traversant cette NP. Les DEF relatifs ont alors été calculés en divisant le DEF par ces deux coefficients. La Table 4.1 regroupe les coefficients m_i et f_i utilisés. Les rayons des AuNP correspondent, en partie, à ceux de l'expérience *in vitro* réalisée par Brun *et al.* [Brun 09b]. Nos résultats simulés seront comparés à ces données expérimentales à la fin de ce chapitre (cf. section 4.4).

Table 4.1: Coefficients de masse (m_i) et de flux de photon (f_i) utilisés pour calculer les DEF relatifs par rapport à la nanoparticule de 50 nm prise comme référence.

GdNP			AuNP		
Rayon (nm)	m_i	f_i	Rayon (nm)	m_i	f_i
50	1	1	50	1	1
40	$5,12 \cdot 10^{-1}$	1,56	46	$7,79 \cdot 10^{-1}$	1,18
30	$2,16 \cdot 10^{-1}$	2,78	37	$4,06 \cdot 10^{-1}$	1,83
20	$6,40 \cdot 10^{-2}$	6,25	25	$1,25 \cdot 10^{-1}$	4
10	$8,00 \cdot 10^{-3}$	$2,50 \cdot 10^1$	19	$5,50 \cdot 10^{-2}$	6,93
5	$1,00 \cdot 10^{-3}$	$1,00 \cdot 10^2$	10	$8,00 \cdot 10^{-3}$	$2,5 \cdot 10^1$
2,5	$1,25 \cdot 10^{-4}$	$4,00 \cdot 10^2$	4	$5,12 \cdot 10^{-4}$	$1,56 \cdot 10^2$
1	$8,00 \cdot 10^{-6}$	$2,50 \cdot 10^3$	2,5	$1,25 \cdot 10^{-4}$	$4 \cdot 10^2$
			1	$8,00 \cdot 10^{-6}$	$2,50 \cdot 10^3$

La comparaison des DEF relatifs pour les différentes GdNP et AuNP est présentée en Figure 4.11.

Relativement à la NP de 50 nm, on remarque que les DEF obtenus dans la sphère d'eau sont d'autant plus importants que le rayon de la NP diminue. Comme nous avons pu le constater lors de l'analyse des spectres (cf. Figure 4.6), nous voyons que l'influence de la taille de la nanoparticule est plus marquée pour l'or que pour le gadolinium. En passant d'un rayon de 50 à 1 nm, le DEF se trouve augmenté de 50 % pour le gadolinium alors qu'il est augmenté de 250 % pour les nanoparticules d'or. Par rapport aux conclusions tirées lors de l'analyse de spectre (cf. bilan 4.2.5), celles tirées de l'étude des DEF s'accordent sur le fait que les nanoparticules de plus petits rayons sont les plus « efficaces » à l'échelle nanométrique (après normalisation). Le nombre d'électrons émis et le DEF local obtenu sont en effet maximaux pour les NP de 1 nm de rayon. En revanche, la comparaison des matériaux montre que les AuNP irradiées à 85 keV créent une augmentation de dose locale plus importante que les GdNP irradiées à 55 keV. Ainsi, les AuNP produisent moins d'électrons que les GdNP mais avec une énergie supérieure. Ces derniers contribuent donc plus à la dose absorbée,

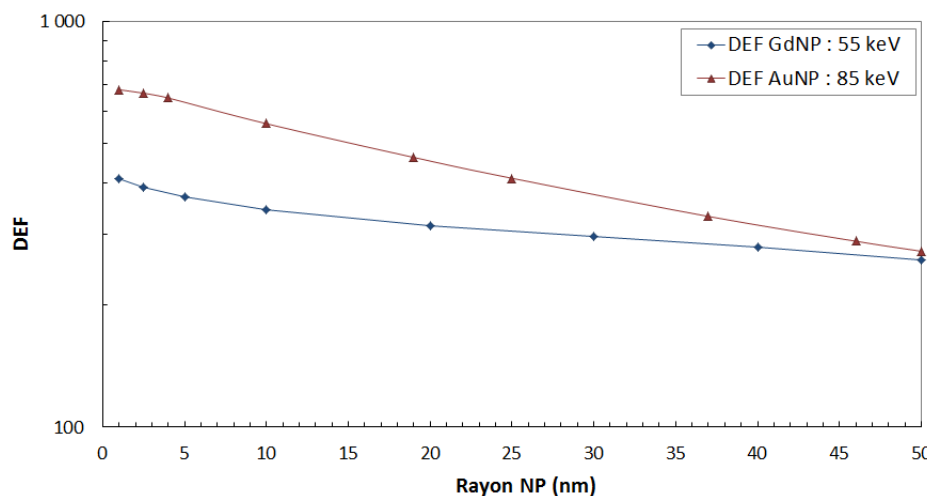


Figure 4.11: DEF moyen et relatif calculé dans la sphère d'eau en fonction du rayon de la nanoparticule. Comparaison des AuNP à 85 keV et des GdNP à 55 keV.

si, bien sûr, leur énergie est majoritairement déposée dans les 500 nm de la sphère d'eau.

Il faut bien rappeler que ces conclusions sont relatives à un effet global considérant une concentration en élément lourd constante, du fait de la « normalisation » du DEF. Cette grandeur n'est pas forcément adaptée pour représenter les effets biologiques ayant lieu à proximité d'une NP. En effet, dans le cas où une NP se trouve proche d'une cible biologique par exemple, il est peut être plus juste de considérer l'effet individuel dû à chacune des NP. Prises individuellement, une NP de 50 nm devrait causer plus de dommages qu'une NP de 1 nm car un plus grand nombre d'atomes lourds est concentré au même endroit.

En complément de l'analyse des DEF moyens, la visualisation des profils de DEF permet d'apporter une autre information quant à l'influence de la taille de la NP sur le dépôt de dose. Nous avons représenté en Figure 4.12 un exemple de deux types de profils, obtenus pour différentes tailles de GdNP (à 55 keV). Pour cette comparaison, les DEF n'ont pas été normalisés par la procédure décrite plus haut, de manière à observer l'influence individuelle des NP sur la forme du dépôt de dose en fonction de leur taille. Les profils tracés selon un axe perpendiculaire au faisceau (Y) peuvent être trouvés en Figure 4.12-A et ceux obtenus selon l'axe du faisceau (Z) peuvent être trouvés en Figure 4.12-B. Les profils sont présentés selon une distance radiale, du centre de la NP jusqu'à la surface de la sphère d'eau, à 500 nm.

Comme cela a déjà été observé précédemment, nous voyons que le DEF hors-champ (A) reste relativement constant sur toute la distance étudiée alors que le DEF dans le champ (B) décroît avec la distance. En s'attardant sur le DEF hors-champ, nous pouvons observer des facteurs d'augmentation de 60 à 2000 du plus petit au plus grand rayon. Encore une fois, le fait que le DEF soit constant sur toute la distance

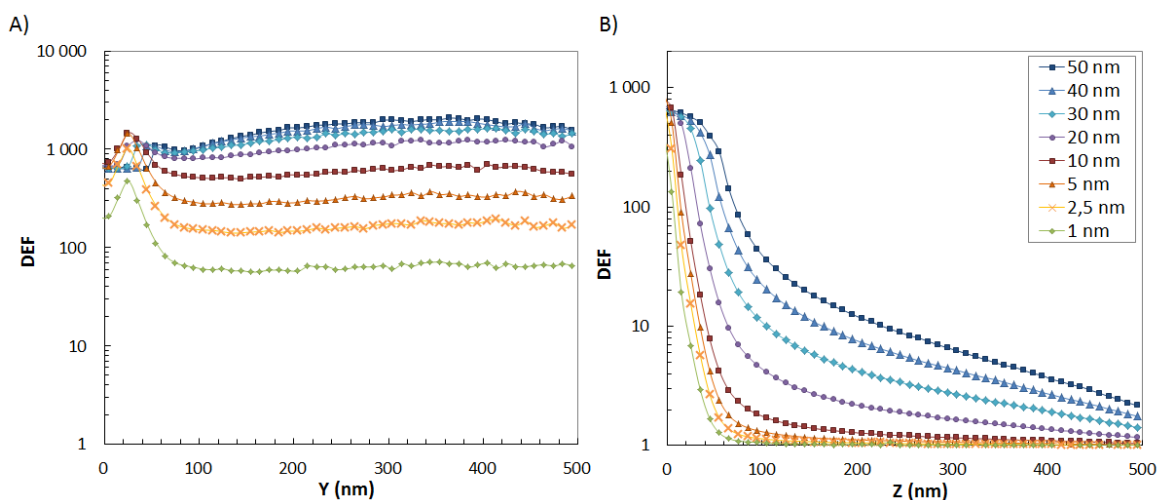


Figure 4.12: Profils de DEF selon l'axe Y, transverse à l'axe du faisceau (A), et selon l'axe du faisceau Z (B), obtenus pour des GdNP de différents rayons (irradiation à 55 keV).

est un effet lié seulement à l'action de source secondaire de la NP. Pour les NP de 1 à 10 nm nous voyons aussi apparaître des perturbations dans les 50 premiers nanomètres, certainement liées à un *build-up* latéral en bordure de faisceau. Les DEF obtenus dans le champ du faisceau (B) montrent des décroissances de pentes différentes en fonction du rayon de la NP. Si les maxima de DEF au centre des NP sont équivalents pour tous les rayons (environ 600), nous observons une décroissance avec la distance d'autant plus rapide que le rayon est petit. Pour les NP de rayon inférieur à 5 nm par exemple, le DEF est déjà inférieur à 2 à 60 nm de distance avec la NP, alors qu'il est encore supérieur à 2 à la surface de la sphère d'eau pour la plus grosse NP. La portée de l'augmentation de dose est donc très différente en fonction de la taille de la NP. Cette information peut être utile à une réflexion d'optimisation de la radiosensibilité de cibles biologiques en présence de NP.

4.3.5 Bilan de l'étude de dose locale

La géométrie utilisée dans cette section nous a permis d'étudier plus précisément et de quantifier l'augmentation de dose associée à une NP, à une échelle plus adaptée que l'échelle cellulaire. Dans la même démarche d'étude paramétrique que dans la section 4.2, nous avons cherché à évaluer le DEF en fonction du matériau, de l'énergie de faisceau et de la taille de la NP.

En observant des profils de dépôt de dose avec et sans NP, nous avons d'abord pu montrer que les NP agissaient comme des sources secondaires sous irradiation, capables d'augmenter localement la dose de plusieurs ordres de grandeurs et de la répartir de façon isotrope. De plus, il a été montré que le DEF obtenu en dehors du champ d'irradiation restait relativement constant (et élevé) sur toute la distance étudiée (500 nm) alors que le DEF dans le faisceau diminuait rapidement avec la distance. À

propos de cette décroissance, l'étude en fonction de la taille des NP a permis de mettre en évidence des différences de pentes. La décroissance observée avec la distance à la NP est d'autant plus rapide que le rayon est petit. En considérant par exemple un seuil d'augmentation de dose supérieur à 2, une GdNP de 5 nm aura une portée de 60 nm alors qu'une GdNP de 50 nm aura une portée supérieure à 500 nm.

L'étude des DEF moyens en fonction de la taille de la NP a permis de montrer que, pour une masse de NP et un flux de photon constant, les NP les plus petites causaient le DEF le plus élevé. Ce résultat est à considérer pour un effet global, à concentration constante. Il est évident qu'en considérant les NP individuellement, l'augmentation de dose sera plus élevée pour les plus grands rayons de NP car un plus grand nombre d'atomes lourds est concentré au même endroit.

Concernant la comparaison entre les deux matériaux, il a été confirmé que les AuNP étaient plus sensibles à la taille que les GdNP. Nous avons observé une augmentation du DEF d'un facteur 1,5 en passant d'une GdNP de 50 nm à celle de 1 nm et un facteur 2,5 entre les AuNP de mêmes rayons. À partir de l'étude en fonction de l'énergie de faisceau, nous avons vu qu'une AuNP était responsable d'un DEF plus important qu'une GdNP, lorsqu'elles sont irradiées au dessus de leurs seuils K respectifs. Un DEF égal à 270 a été calculé en irradiant une AuNP de 50 nm à 85 keV, contre un 170 pour une GdNP irradiée à 55 keV.

Dans un but d'optimisation, nous pouvons remarquer que le choix de l'énergie de faisceau doit s'accompagner d'une réflexion sur l'optimisation thérapeutique à l'échelle du patient et pas seulement à l'échelle nano ou micrométrique. En effet, lorsque l'on diminue l'énergie de faisceau, l'augmentation de la dose absorbée en surface devient préoccupante, notamment dans les os du crâne pour l'application du cancer du cerveau. Une étude dosimétrique avait été faite par Caroline Boudou [Boud 05], puis Magali Edouard [Edou 10b] avec l'utilisation d'un produit de contraste iodé. Le choix optimal de l'énergie de faisceau s'était porté sur 80 keV, fruit d'un compromis entre l'augmentation de dose à la tumeur et la dose absorbée dans l'os. Il serait nécessaire de vérifier cette optimisation d'un point de vue macroscopique avec la comparaison du gadolinium et de l'or.

4.4 Comparaison avec des données expérimentales

Afin d'appliquer à un cas concret le modèle de simulation étudié dans la partie précédente (cf. section 4.3), nous avons essayé de comparer les doses obtenues localement autour d'une AuNP, avec des résultats expérimentaux. Dans le chapitre 1 nous avons mentionné de nombreuses expériences *in vitro* réalisées avec des nanoparticules d'or, notamment les expériences menées sur plasmides par l'équipe de Cécile Sicard-Roselli. Des expériences ont en effet été menées pour tester expérimentalement l'influence de divers paramètres sur la radiosensibilité en présence de AuNP, notamment en fonction de l'énergie de faisceau et de la taille des AuNP. Dans cette partie, nous nous sommes intéressés à deux résultats particuliers portant sur chacun de ces

paramètres.

Une première étude, publiée par McMahon *et al.* [McMa 11b], a porté sur l'influence de l'énergie du faisceau en termes d'efficacité biologique. Les résultats qu'ils ont obtenus peuvent être trouvés en Figure 1.15. Les raisons de l'obtention d'une telle tendance, avec deux maxima à 20 et 50 keV, n'avaient pas été clairement identifiées. En particulier, les auteurs ont comparé leurs résultats expérimentaux avec les prédictions théoriques, assimilées au rapport des coefficients d'absorption massiques. Les deux tendances obtenues ont montré des différences importantes, la plus flagrante étant à 40 keV, énergie pour laquelle la théorie prévoit le maximum d'effet alors qu'il y a un minimum dans les résultats expérimentaux. Nous avons donc essayé de reproduire ces conditions expérimentales dans nos simulations afin d'en tirer une information sur l'augmentation de dose locale, en complément des informations expérimentales. Dans cette expérience, les nanoparticules d'or étant mélangées en solution directement avec des plasmides, nous avons estimé que le modèle de dose dans un rayon de 500 nm pour une AuNP isolée était plus adapté que le modèle cellulaire. Les expériences ont été menées lors de deux campagnes de mesures : l'une, réalisée à l'ESRF, a permis de couvrir des énergies de 30 à 80 keV et la seconde, réalisée à la *Diamond Light Source* (DLS) a permis de couvrir des énergies de 12 à 60 keV. Les nanoparticules utilisées dans les expériences sont de 38 nm de diamètre. Les résultats obtenus expérimentalement sont exprimés en termes d'efficacité biologique (facteur noté EF pour *Enhancement Factor*). L'EF correspond à un taux de cassures simple-brin (CSB) mesuré lors d'une irradiation de brins d'ADN plasmides en présence de AuNP, par rapport à la mesure sans nanoparticules. Plus d'informations sur les conditions expérimentales peuvent être trouvées dans la publication [McMa 11b].

Pour les calculs Monte Carlo, nous avons utilisé le modèle géométrique décrit en Figure 4.7. Le facteur d'augmentation de dose local a été calculé dans la sphère d'eau de 500 nm, avec une AuNP de 38 nm de diamètre. Nous avons couvert des énergies de faisceau de 5 à 80 keV. Les résultats obtenus peuvent être trouvés en Figure 4.13. Nous avons placé sur la même figure les résultats expérimentaux, avec une échelle différente placée à droite du graphique.

Il est bien évident que nous ne cherchons pas ici à retrouver les valeurs absolues des facteurs d'efficacité biologique. Pour retrouver les amplitudes du DEF calculé, en termes biologiques, il faudrait que chaque AuNP présente dans la solution soit irradiée, et suffisamment proche d'une cible pour causer des dégâts. Ce n'est bien sûr pas le cas, c'est pourquoi nous ne comparons ici que la variation du facteur d'augmentation en fonction de l'énergie du faisceau.

Nous pouvons voir qu'il existe des divergences claires entre les résultats expérimentaux et le calcul. Le calcul permet de retrouver correctement la position du premier maximum, aux alentours de 20 keV. Cela suggère que l'échelle observée dans le calcul (de l'ordre de la centaine de nanomètres) est potentiellement bien adaptée aux distances mises en jeu entre les AuNP et les plasmides. En revanche, le calcul prévoit une diminution continue du DEF au delà de 20 keV alors que les expériences

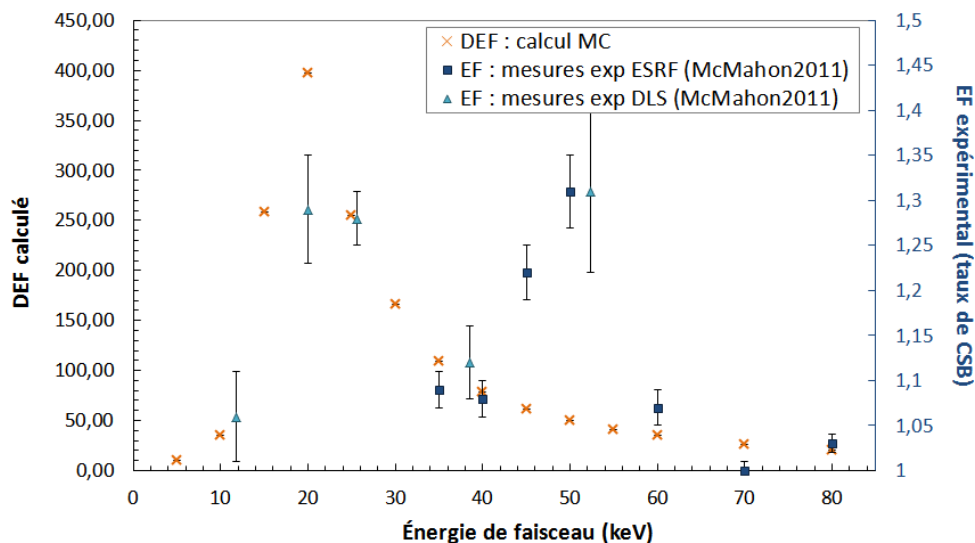


Figure 4.13: Comparaison du DEF calculé à l'échelle nanométrique par simulation MC, avec les *Enhancement Factor* (EF) publiés par McMahon *et al.* [McMa 11b]. Étude en fonction de l'énergie du faisceau de photons.

montrent un minimum d'efficacité à 40 keV et un deuxième maximum à 50 keV. Il n'y a *a priori* aucune raison physique d'obtenir un maximum à cette énergie. Le test statistique d'Anderson-Darling (cf. section 2.2.5), appliqué aux deux distributions calculées et mesurées (somme des deux expériences) après normalisation, a donné une valeur de p égale à 0,00023. Cette valeur, très inférieure à 0,05, nous confirme que le modèle physique n'est pas statistiquement compatible avec ce résultat biologique.

Nous avons émis l'hypothèse qu'il pouvait s'agir d'un effet combiné entre une augmentation des dommages locaux, liée à la proximité d'une nanoparticule, et des dommages associés à l'augmentation de dose dans l'ensemble du volume. Afin de vérifier cette hypothèse nous avons calculé le DEF macroscopique dans les conditions de l'expérience (irradiation dans un capillaire à paroi de verre fin). Cependant, le résultat montre un maximum autour 40 keV, ce qui correspond au minimum de l'efficacité biologique observée. La raison de la position d'un maximum à 50 keV ne semble pas être liée à une cause physique, mais peut-être d'ordre biologique ou chimique. Il est aussi possible que nous n'ayons pas intégré suffisamment de données dans ce modèle pour représenter correctement les conditions expérimentales.

Afin d'aller plus loin dans le problème, il serait intéressant de pouvoir prolonger les mesures pour des énergies supérieures au seuil K de l'or. Nous devrions normalement voir apparaître une augmentation importante de l'efficacité biologique. D'en connaître l'amplitude par rapport aux deux autres maxima serait très utile à la compréhension de tels phénomènes.

La deuxième expérience d'intérêt pour nos comparaisons est celle publiée par Brun *et al.* [Brun 09b], notamment pour les résultats d'efficacité biologique obtenus

en fonction de la taille des AuNP. Cette expérience a aussi été réalisée sur plasmides en présence de AuNP et l'efficacité biologique a été mesurée de la même façon que dans l'étude décrite précédemment. Les résultats qui nous intéressent sont ceux discutés dans le chapitre 1, en Figure 1.14-B. Dans cette expérience, des nanoparticules de 8, 20, 38, 74 et 92 nm de diamètre ont été comparées. L'irradiation a été faite à l'aide d'un tube RX, à une énergie effective de 49 keV (tension du tube de 120 kVp). Il est important de remarquer ici que les mesures expérimentales ont été réalisées avec un nombre de AuNP constant dans la solution au lieu d'une concentration en or constante. Ainsi, en augmentant la taille des nanoparticules, la quantité d'or présente dans la solution augmente.

Afin de prendre en compte ces conditions dans les calculs, nous avons donc considéré les DEF obtenus pour les cinq AuNP, sans normaliser les résultats par rapport à la masse des NP. L'irradiation a été effectuée avec l'approximation d'un faisceau monochromatique d'énergie égale à l'énergie effective du tube RX, à 49 keV. Les résultats de DEF obtenus et la comparaison avec les résultats expérimentaux peuvent être trouvés en Figure 4.14.

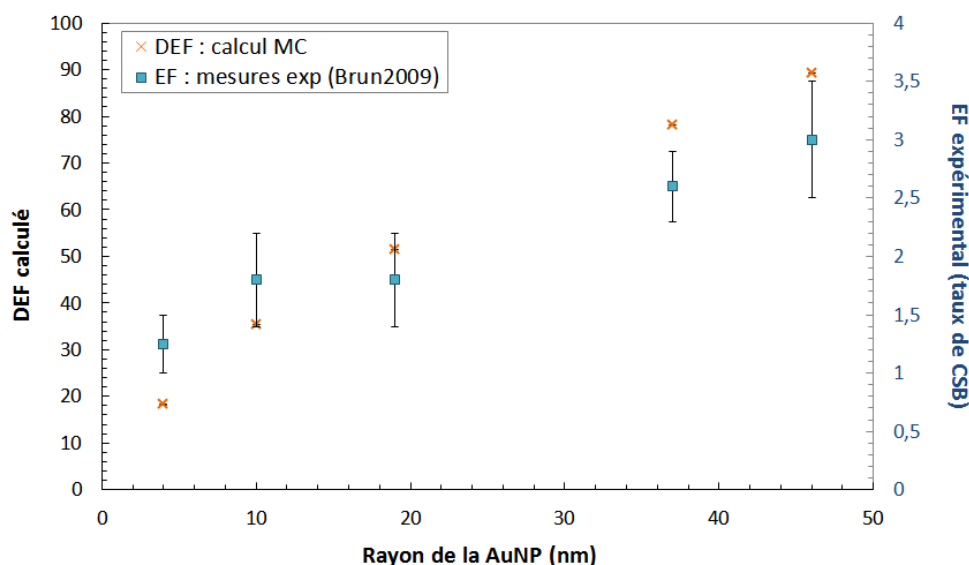


Figure 4.14: Comparaison du DEF calculé à l'échelle nanométrique par simulation MC, avec les *Enhancement Factor* (EF) publiés par Brun *et al.* [Brun 09b]. Étude en fonction de la taille des AuNP.

Nous pouvons voir que, malgré l'approximation faite de l'énergie monochromatique, les résultats de DEF calculés et ceux d'efficacité biologique mesurés expérimentalement présentent une tendance similaire. Ces deux distributions, comparées après normalisation, sont statistiquement compatibles ($p\text{-value} = 0,53$). Cela nous conforte dans l'idée que le DEF calculé à l'échelle de la centaine de nanomètres est potentiellement une grandeur adaptée à ce type d'expérience, dans la mesure en tout cas, où nous ne pouvons prendre en compte dans nos modèles que l'aspect physique lié aux AuNP.

4.5 Bilan de l'étude locale autour de la nanoparticule

Ce chapitre a été consacré à l'étude de la nanoparticule à une échelle adaptée à l'objet, afin notamment de quantifier l'effet de « point chaud » discuté dans le chapitre 3. Nous avons cherché ici à caractériser le comportement d'une nanoparticule sous irradiation en fonction de trois paramètres d'influence : le matériau (or et gadolinium), l'énergie du faisceau de photons et la taille de la nanoparticule. Pour cela, nous avons étudié deux grandeurs complémentaires, dont l'analyse constitue les deux premières parties de ce chapitre : les spectres d'électrons secondaires produits et l'augmentation de dose locale liée à ces électrons. La dose que nous avons qualifiée de « locale » s'applique dans ce cas à l'échelle de la centaine de nanomètres autour de la nanoparticule. Des bilans intermédiaires des résultats obtenus dans ces deux grandes études peuvent être trouvés au paragraphe 4.2.5 pour les spectres et au paragraphe 4.3.5 pour la dose. Dans la dernière partie de ce chapitre, nous avons appliqué l'étude de dose locale à une comparaison expérimentale.

Les analyses des quantités d'électrons produits et de la dose déposée en fonction de l'énergie de faisceau ont montré une tendance similaire, rappelant celle des rapports des coefficients d'atténuation massiques. Pour ces deux quantités, une diminution globale est observée lorsque l'énergie de faisceau augmente, mais des augmentations brusques apparaissent juste après les seuils K des deux éléments. Ces augmentations locales sont accompagnées d'une diminution importante de l'énergie moyenne des électrons produits, marquant la forte production des photo-électrons K.

Plusieurs conclusions ont pu être tirées en étudiant l'influence de la taille des nanoparticules. Nous avons choisi d'utiliser des énergies différentes pour la comparaison des deux matériaux, au niveau des seuils K de chacun des éléments (55 keV pour le gadolinium et 85 keV pour l'or) afin de comparer des processus physiques de relaxation équivalents avec un maximum d'interactions photoélectriques en couche K. Il a été montré qu'une GdNP permettait de produire plus d'électrons (et de plus basse énergie) qu'une AuNP, d'un facteur 3,5 environ. En revanche, l'augmentation de dose locale (dans un rayon de 500 nm autour de la nanoparticule) due à une AuNP est plus importante que celle causée par une GdNP (d'un facteur 1,5). L'étude des spectres a mis en évidence la contribution particulièrement importante des électrons de basse énergie. Il s'est avéré que la majorité des électrons étaient d'énergie inférieure à 5 keV (de 59 à 86 % selon les cas), en partie due à la forte production de photo-électrons K. Nous avons montré que la part des électrons absorbés dans la NP est d'autant plus importante que le rayon augmente. Ce phénomène s'accompagne d'une augmentation de l'énergie moyenne des électrons.

En étudiant la dose locale, nous avons vu que les nanoparticules agissaient comme des sources secondaires, capables d'augmenter localement la dose de plusieurs ordres de grandeurs et de la répartir de façon isotrope. Dans le faisceau, le DEF décroît rapidement avec la distance à la NP et d'autant plus rapidement que la NP est petite. Par exemple, une GdNP de 50 nm peut encore produire une augmentation

de dose d'un facteur 2 jusqu'à 500 nm alors que ce DEF n'est plus atteint après une quarantaine de nanomètres pour une GdNP de 1 nm.

La troisième partie de ce chapitre (cf. section 4.4) a porté sur une comparaison du DEF local avec un facteur d'efficacité biologique, ce dernier correspondant au taux de cassures simple-brin mesuré lors de l'irradiation de plasmides en présence ou non de AuNP. Nous avons utilisé deux résultats, l'un concernant la dépendance à l'énergie de faisceau [McMa 11b] et l'autre à celle du diamètre des AuNP [Brun 09b]. En comparant les tendances relatives obtenues, nous avons montré une corrélation statistiquement satisfaisante entre le calcul et l'expérience pour la dépendance en taille. En revanche, la dépendance en énergie n'a pu être retrouvée qu'en partie. La position du maximum de radiosensibilité observé à 20 keV est bien décrite par l'augmentation de dose, mais aucune cause physique n'a pu être identifiée pour expliquer le deuxième maximum à 50 keV. Afin de poursuivre cette étude, il serait intéressant de compléter les données expérimentales pour des énergies supérieures au seuil K de l'or. De connaître l'amplitude de l'augmentation de la radiosensibilité au passage du seuil, par rapport aux deux autres maxima, pourrait permettre de comprendre mieux les phénomènes mis en jeux. Ces phénomènes sont potentiellement d'ordre chimique et biologique. Une façon d'améliorer notre modèle de simulation serait par exemple de prendre en compte l'aspect physico-chimique et chimique de l'irradiation dans le code Monte Carlo. Cela peut être fait aujourd'hui en utilisant la classe « DNA » du code Geant4. Celle-ci permet de prendre en compte la création de radicaux dans l'eau suite à l'irradiation et leur transport.

Conclusion générale et perspectives

Cette thèse s'inscrit dans un contexte de thérapie par photoactivation d'éléments lourds, un traitement novateur combinant un rayonnement de basse énergie (de l'ordre de la dizaine à la centaine de keV) et une injection préalable d'éléments lourds (numéro atomique élevé). L'élément lourd s'accumulant préférentiellement dans la tumeur, un effet différentiel peut être obtenu entre la tumeur et les tissus sains non chargés, du fait de l'importante différence d'absorption des RX de basse énergie dans ces matériaux. Un programme de recherche est réalisé depuis plus de 10 ans sur la ligne biomédicale de l'ESRF (European Synchrotron Radiation Facility, Grenoble) portant sur le développement de cette technique pour le traitement des tumeurs cérébrales [Elle 99, Boud 05, Adam 08, Edou 10a]. L'utilisation d'un faisceau monochromatique synchrotron comme source de radiothérapie permet en effet de sélectionner l'énergie du rayonnement la plus appropriée, afin d'augmenter l'effet différentiel mentionné plus haut.

L'élément absorbant a été étudié sous différentes formes dans la littérature, notamment sous forme de nanoparticules. Ces dernières permettent à la fois une vectorisation plus adaptée et une efficacité accrue de la technique par rapport aux produits de contraste. De nombreuses observations lors d'expériences *in vivo* et *in vitro* ont montré une augmentation significative de la radiosensibilité en présence de nanoparticules d'or ($Z_{Au} = 79$) [Hain 04, Brun 09b, McMa 11b] ou de platine ($Z_{Pt} = 78$) [Porc 10]. Cependant, les causes physiques, chimiques et biologiques d'une telle augmentation sont mal connues. La compréhension des processus impliqués nécessite le rapprochement de ces expériences avec des modèles théoriques. Une étude de simulation Monte Carlo, réalisée par Cho *et al.* [Cho 05], a montré par exemple que la modélisation macroscopique des conditions de l'expérience de Hainfeld *et al.* [Hain 04] ne permettait d'expliquer que la moitié de la réponse biologique observée. D'autres études de simulation ont mis en évidence l'importance de prendre en compte l'hétérogénéité de la distribution de l'élément lourd dans les modèles physiques à l'échelle du micromètre [Edou 10b, Jone 10] et du nanomètre [Cart 07, Leun 11, Chow 12, Lech 11, McMa 11a]. Les comparaisons cohérentes entre les modèles physiques et les données expérimentales se font cependant rares. Un consensus général ressort de ces études sur le fait que la radiosensibilité est principalement causée par les électrons de « basse énergie », produits en grand nombre par les nanoparticules. La notion de « basse énergie » dépend toutefois de la distance entre l'élément lourd et la cible biologique visée. Les électrons causant les principaux dégâts biologiques ne sont certainement pas de même origine dans le cas, par exemple, où les NP sont intégrées dans le noyau cellulaire et dans le cas où elles sont seulement présentes dans le milieu extra-cellulaire.

Ces considérations ont mené à cibler le présent travail sur la modélisation des phénomènes physiques associés aux nanoparticules, l'idée étant de les relier à des résultats concrets de réponses biologiques. Nous avons cherché à identifier les mécanismes physiques impliqués, mais aussi à étudier ces mécanismes en fonction de plusieurs paramètres, dans un but d'optimisation de la thérapie. L'association du laboratoire LM2S et de l'équipe INSERM a permis de répondre à ces objectifs. Dans une première partie, les simulations ont été orientées par rapport à des expériences réalisées sur la ligne médicale de l'ESRF, portant sur la radiosensibilité cellulaire en présence de nanoparticules de gadolinium (GdNP). Dans une deuxième partie, nous avons comparé les comportements sous irradiation de nanoparticules d'or (AuNP) et de GdNP à une échelle nanométrique. Une comparaison expérimentale a aussi été faite dans ce chapitre, le facteur biologique étant cette fois la radiosensibilité d'ADN plasmide en présence de AuNP.

Dans la première partie de la thèse (cf. chapitre 3), nous avons réalisé des expériences de clonogénicité sur des cellules de gliome de rat (modèle F98) afin d'étudier leur radiosensibilité en présence de gadolinium. Ces expériences ont permis d'observer la réponse cellulaire en fonction de l'énergie de faisceau, de la forme du gadolinium (produit de contraste ou nanoparticules) et de la localisation des GdNP au sein des cellules (incubées ou non). Les résultats obtenus ont été présentés en termes de SER_{4Gy} (facteur d'augmentation de la mort cellulaire en présence de gadolinium pour une irradiation de 4 Gy). Nous avons pu voir que les GdNP incubées 5 h avec les cellules étaient particulièrement efficaces par rapport aux nanoparticules non-incubées et au Magnevist[®], à la même concentration en gadolinium. Le SER_{4Gy} obtenu en présence de Magnevist[®] pourrait être expliqué par la simple augmentation de dose dans le volume total en présence de gadolinium. En revanche, l'augmentation de la radiosensibilité en présence de GdNP s'élève jusqu'à des facteurs deux fois supérieurs à ceux du Magnevist[®], suggérant l'apparition d'autres mécanismes qui s'ajoutent à l'augmentation de dose globale. Deux hypothèses ont été avancées pour expliquer une telle radiosensibilité. La première est d'ordre biologique et expliquerait notamment l'augmentation de la radiosensibilité même pour la source de cobalt 60 : une modification du cycle cellulaire a été observée pour les cellules incubées, ces dernières restant bloquées préférentiellement en phase G2/M, connue pour être une phase particulièrement radiosensible. La deuxième hypothèse est d'ordre physique et serait responsable des disparités observées entre les énergies : il s'agit de l'augmentation de dose locale supposée très importante au voisinage des GdNP.

Ces expériences ont servi de référence tout au long de l'étude. Les simulations présentées dans cette thèse ont été réalisées afin de répondre à diverses questions :

- les différences obtenues en fonction de la localisation des GdNP peuvent-elles être observées par la simulation ?
- les électrons de « basse énergie » ont-ils un rôle important dans l'augmentation de la radiosensibilité cellulaire observée expérimentalement ?
- peut-on trouver une observable physique expliquant les différences de radiosensibilité entre la forme homogène du gadolinium (Magnevist[®]) et la forme

particulaire (GdNP) à l'échelle cellulaire ?

Nous avons pour cela utilisé un modèle cellulaire composé de trois sphères concentriques (le cytoplasme, le noyau et la membrane) et entouré d'un milieu cubique extra-cellulaire. L'étude de la dose moyenne déposée dans les différentes parties cellulaires, a montré des résultats de DEF plus important pour une localisation du gadolinium homogène externe par rapport au gadolinium interne, à cause de la concentration en gadolinium plus importante dans le premier cas. Les résultats de SER_{4Gy} en présence de nanoparticules, au contraire, étaient plus important dans le cas des cellules *incubées rincées* que dans celui des cellules *non-incubées*, à cause de l'action biologique des GdNP sur les cellules. De plus la tendance observée en fonction de l'énergie de faisceau est très différente entre le DEF au cytoplasme et le SER_{4Gy} (cf. Figure 3.7). Des précisions ont pu être apportées en modélisant le gadolinium sous différentes formes, notamment sous forme de nanoparticules. Des cartes de DEF obtenues en deux dimensions ont montré une augmentation très importante au voisinage des GdNP (cette augmentation a été quantifiée dans le chapitre 4). En modélisant le cas de nanoparticules réparties aléatoirement sur la membrane (le plus proche du cas expérimental), nous avons montré qu'il existait une bonne corrélation entre le SER_{4Gy} et le DEF calculé à la membrane. Dans l'étude considérant le gadolinium homogène, nous avons aussi montré que les électrons de haut TEL ne semblaient pas avoir d'influence au niveau du noyau. Nous avons donc estimé, d'après ces différents résultats, que la membrane pourrait être la cible privilégiée pour expliquer la radiosensibilité observée expérimentalement, à cause de l'augmentation de dose locale autour des GdNP. Afin de préciser cette augmentation de dose locale et de déterminer le type d'électrons impliqués, une géométrie focalisée sur une seule nanoparticule a été adoptée dans le chapitre 4.

La deuxième partie de la thèse (cf. chapitre 4) a été consacrée à une étude paramétrique basée sur le comportement d'une nanoparticule sous irradiation, avec une échelle adaptée à sa dimension. L'influence du matériau a été étudié, en comparant les réponses de nanoparticules d'or et de gadolinium. L'échelle cellulaire ne permettant pas d'observer significativement l'influence de la taille des nanoparticules, l'étude de ce paramètre a été faite à l'échelle d'une NP en termes d'évolution des spectres d'électrons émis par la NP et de la dose déposée localement autour de celle-ci (dans un rayon de 500 nm).

La conclusion que l'on peut tirer, quant à l'efficacité des AuNP par rapport aux GdNP, dépend de l'observable et de la cible visée. Il a été montré qu'une GdNP permettait de produire plus d'électrons (et de plus basse énergie) qu'une AuNP à masse égale, mais que l'augmentation de dose locale due à une AuNP était plus importante que celle causée par une GdNP. Les GdNP devraient donc être plus efficaces pour des cibles situées à quelques nanomètres, mais moins efficaces que des AuNP pour des cibles distantes de quelques centaines de nanomètres. En se plaçant aux énergies des seuils K respectifs des deux matériaux, nous avons montré que les spectres d'électrons émis par les NP étaient dominés par les électrons de basse énergie (< 5 keV), malgré l'absorp-

tion de ces électrons à l'intérieur même des NP. L'auto-absorption des électrons étant d'autant plus importante que la taille de la NP augmente, nous pouvons remarquer qu'à masse égale, les NP les plus petites devraient être les plus efficaces. Cependant, en suivant ce raisonnement le modèle des atomes de gadolinium répartis homogènement dans le milieu devrait être le plus efficace, comme les simulations réalisées à l'échelle cellulaire semblent l'indiquer (cf. Figure 3.15). Or, les expériences réalisées à l'ESRF montrent le contraire. Outre l'influence biologique des NP sur les cellules, il est probable qu'il faille considérer individuellement les NP, sans raisonner en terme de concentration en atomes lourds constante, pour représenter correctement l'effet local physique de ces objets. En s'intéressant à l'aspect individuel des NP, celles de plus grand rayon causent une augmentation de dose absorbée dans leur voisinage plus importante et de plus grande portée spatiale que les petites NP, à cause de la plus grande concentration en atomes lourds. Les résultats obtenus en termes de dose locale autour d'une AuNP ont été mis en relation avec des résultats expérimentaux réalisés sur plasmides [Brun 09b]. La bonne corrélation entre les résultats simulés et expérimentaux a permis de vérifier l'influence individuelle des AuNP en fonction de leur taille.

Un point particulièrement important, mis en évidence par la simulation, est la capacité des nanoparticules à se comporter comme des sources secondaires isotropes d'irradiation. L'augmentation de dose est très importante à quelques nanomètres de la NP (de deux à trois ordres de grandeurs), avec une décroissance rapide lorsqu'on s'en éloigne. Cette remarque concorde avec les conclusions tirées dans le chapitre 3, confirmant la forte probabilité que la mort cellulaire soit causée par des dommages à la membrane dans le cas où les GdNP sont très proches de cette dernière. Les électrons impliqués dans ces effets de proximité proviennent essentiellement des relaxations atomiques des atomes lourds (électrons Auger, Coster-Krönig) et des photo-électrons K si l'on se place à une énergie de faisceau supérieure et proche du seuil K.

Pour finir, les calculs d'augmentation de la dose locale autour d'une AuNP en fonction de l'énergie du faisceau ont été mis en relation avec des résultats expérimentaux publiés récemment par McMahon *et al.* [McMa 11b]. Des divergences inexplicables ont été mises à jour, montrant les limites de l'aspect purement physique de nos simulations. Des améliorations du modèle théorique seraient nécessaires pour approfondir les connaissances des mécanismes mis en jeux dans ces expériences.

D'autres perspectives sont à envisager dans un futur proche pour compléter les résultats obtenus dans l'ensemble de ce travail.

Concernant les codes Monte Carlo utilisés, nous avons pu nous rendre compte au cours de la thèse des nombreuses difficultés liées à la simulation des nanoparticules. Premièrement à cause des tailles mises en jeu, nécessitant un transport des particules à une très petite échelle spatiale. Ensuite pour le nombre rapidement croissant de volumes à prendre en compte dans les géométries, impliquant un temps de calcul très vite critique ou une incertitude statistique plus importante. La plupart des résultats présentés dans ce manuscrit ont été obtenus avec le code PENELOPE. Ce code a en effet fait ses preuves pour les applications de la microdosimétrie, tout au moins parmi les

codes Monte Carlo généraux permettant de simuler le transport des particules pour de nombreux matériaux. Les atouts essentiels pour la thèse ont été l'outil de réduction de variance et la parallélisation du code sur un cluster de calcul développés au laboratoire LM2S. Cela a permis d'obtenir des incertitudes statistiques inférieures au pourcent, dans des temps de calculs raisonnables, lors de la simulation de phénomènes physiques très peu probables. Des limitations ont cependant été constatées lors de la prise en compte de géométries complexes ou constituées d'un grand nombre de volumes (cas des nanoparticules considérées à l'échelle cellulaire). Une adaptation du traitement de la géométrie dans PENELOPE serait une piste intéressante à envisager pour le LM2S.

Le code Geant4 est connu pour permettre la simulation de géométries complexes. Néanmoins, nous avons été rapidement confrontés à des difficultés en utilisant ce code pour l'application des nanoparticules. En effet, Geant4 ne disposant pas d'un outil de réduction de variance adapté, il a été difficile d'obtenir des résultats significatifs en termes d'incertitudes statistiques, dans des temps de calculs raisonnables. La prochaine mise à jour du code devrait remédier à ce problème en incluant un outil proche du mécanisme dit « Forced interaction » de PENELOPE, pour lequel le laboratoire se propose de tester l'efficacité de l'outil.

À plus long terme, nous avons commencé à réfléchir à la mise en place dans le code, d'un outil de géométrie plus adapté à l'application des nanoparticules. Il s'agirait d'utiliser une génération stochastique de la géométrie au fur et à mesure de la simulation, au lieu de fixer la géométrie une fois pour toutes au début de la simulation. Cela permettrait d'apporter une solution élégante et moins couteuse en temps de calcul pour la simulation d'un très grand nombre de nanoparticules. Nous avons fait des tests laissant penser que le principe devrait fonctionner mais n'avons pas pu pousser l'étude suffisamment loin pour l'appliquer à notre problème. Le développement d'une telle méthode constituerait une avancée majeure dans la simulation des nanoparticules, mais pourrait aussi être appliqué à d'autres thématiques, comme la modélisation des billes d'uranium dans les réacteurs nucléaires.

Afin de préciser les résultats obtenus dans ce travail de thèse, concernant le comportement de NP sous irradiation et la comparaison à l'expérience, il serait ensuite intéressant d'étudier d'autres observables physiques. Par exemple, nous avons commencé à étudier les processus d'interactions (photoélectrique, Compton, etc.) et les lieux d'interactions des particules primaires et secondaires, ces informations étant facilement accessibles à travers les classes d'actions de Geant4. Les résultats sont encore à compléter et n'ont donc pas pu être inclus dans ce manuscrit. Pour préciser encore plus ces résultats nous voudrions descendre à l'échelle de la couche sur laquelle l'interaction a eu lieu et pas seulement à celle du processus. Notamment, nous aimerions pouvoir comparer les résultats expérimentaux avec le taux d'interactions en couches profondes (K et L) ayant lieu dans les nanoparticules et avec la dose déposée dans une zone cible uniquement due à ces événements. L'information d'interaction par couche n'est pas encore disponible dans Geant4 mais l'est dans PENELOPE après modification du code. Cette étude est aussi en cours.

Pour compléter nos résultats, dans une démarche de comparaison de modélisation à l'expérience, il serait aussi intéressant d'intégrer dans nos modèles de simulation les aspects physico-chimiques et chimiques de l'irradiation. Cela permettrait de mieux comprendre les phénomènes mis en jeu dans les expériences décrites aux chapitres 3 et 4. La dernière mise à jour de la classe Geant4-DNA devrait permettre cette prise en compte avec la formation et le transport de radicaux dans l'eau. De plus, le transport des électrons dans l'eau étant plus précis dans Geant4-DNA que dans PENELOPE, cela permettrait également de vérifier les échelles des augmentations de dose calculées à proximité des NP au chapitre 4.

Enfin, nous pouvons émettre des perspectives d'un point de vue expérimental pour optimiser l'efficacité de la thérapie par photoactivation de nanoparticules. Les expériences réalisées à l'ESRF ont été faites avec des nanoparticules se fixant sur la membrane cellulaire. D'après les calculs réalisés au chapitre 4, nous avons vu que l'augmentation de dose est extrêmement importante à quelques nanomètres des NP. Afin d'augmenter l'efficacité du traitement, il serait judicieux d'utiliser des nanoparticules qui peuvent être vectorisées vers des cibles cellulaires particulièrement critiques, comme le noyau. Nous avons vu dans le chapitre 1 que Lewis *et al.* [Lewi 10] avaient récemment montré que leurs nanoparticules d'or et de platine semblaient intégrer le noyau cellulaire après incubation. L'utilisation de telles nanoparticules pour la thérapie s'annonce très prometteuse. Une collaboration a été démarrée avec l'équipe INSERM et devrait mener à la réalisation d'expériences en commun afin de vérifier l'efficacité de ces NP sur les cellules F98.

En conclusion, les études de simulation aux échelles micrométriques et nanométriques ont permis de faire avancer la compréhension des phénomènes physiques associés à l'irradiation de nanoparticules d'or et de gadolinium pour la thérapie par photoactivation d'éléments lourds. Notamment, ces études ont permis de quantifier l'accroissement de dose locale autour des nanoparticules, responsable d'une partie de la radiosensibilité induite par la méthode. D'autre part, l'étude des spectres de particules secondaires émises par les nanostructures a permis de corroborer l'hypothèse généralement avancée de l'impact des électrons de basse énergie sur l'effet biologique. Ce travail, à la frontière de plusieurs domaines, nous invite à penser que la compréhension et l'amélioration de la technique doivent passer par deux axes principaux : d'un point de vue clinique, par une vectorisation des nanoparticules, ciblant non seulement les cellules tumorales mais aussi les cibles biologiques critiques au sein de la cellule ; et d'un point de vue de la modélisation, par la prise en compte, au delà des effets physiques, des phénomènes physico-chimiques et chimiques postérieurs à l'irradiation.

Bibliographie

- [Abde 10] W. Abdel-Rahman and E. Podgorsak. “Energy transfer and energy absorption in photon interactions with matter revisited : A step-by-step illustrated approach”. *Radiation Physics and Chemistry*, Vol. 79, No. 5, pp. 552 – 566, 2010. 55
- [Adam 03] J.-F. Adam, H. Elleaume, A. Joubert, M.-C. Biston, A.-M. Charvet, J. Balosso, J.-F. L. Bas, and F. Estève. “Synchrotron radiation therapy of malignant brain glioma loaded with an iodinated contrast agent : First trial on rats bearing F98 gliomas”. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, Vol. 57, No. 5, pp. 1413 – 1426, 2003. v, vii, 17
- [Adam 05] J.-F. Adam, M.-C. Biston, A. Joubert, A.-M. Charvet, J.-F. L. Bas, F. Estève, and H. Elleaume. “Enhanced delivery of iodine for synchrotron stereotactic radiotherapy by means of intracarotid injection and blood brain barrier disruption : Quantitative iodine biodistribution studies and associated dosimetry”. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, Vol. 61, No. 4, pp. 1173 – 1182, 2005. 16, 17
- [Adam 06] J.-F. Adam, A. Joubert, M.-C. Biston, A.-M. Charvet, M. Peoc’h, J.-F. L. Bas, J. Balosso, F. Estève, and H. Elleaume. “Prolonged survival of Fischer rats bearing F98 glioma after iodine-enhanced synchrotron stereotactic radiotherapy”. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, Vol. 64, No. 2, pp. 603 – 611, 2006. v, vii, 17
- [Adam 08] J. Adam, M. Biston, J. Rousseau, C. Boudou, A. Charvet, J. Balosso, F. Estève, and H. Elleaume. “Heavy element enhanced synchrotron stereotactic radiotherapy as a promising brain tumour treatment”. *Physica Medica*, Vol. 24, No. 2, pp. 92 – 97, 2008. 18, 151
- [Adam 77] F. H. Adams, A. Norman, R. S. Mello, and D. Bass. “Effect of Radiation and Contrast Media on Chromosomes”. *Radiology*, Vol. 124, No. 3, pp. 823–826, 1977. 6
- [Agos 03] S. Agostinelli, J. Allison, K. Amako, J. Apostolakis, H. Araujo, P. Arce, M. Asai, D. Axen, S. Banerjee, G. Barrand, *et al.* “GEANT4-a simulation toolkit”. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A : Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment*, Vol. 506, No. 3, pp. 250–303, 2003. 76
- [Arce 11] P. Arce, J. I. Lagares, L. Harkness, L. Desorgher, G. de Lorenzo, Y. Abreu, and Z. Wang. “GAMOS : an easy and flexible way to use GEANT4”. In : *Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference (NSS/MIC), 2011 IEEE*, pp. 2230–2237, IEEE, 2011. 76

- [Auge 23] P. Auger. “Sur les rayons beta secondaires produits dans un gaz par des rayons X”. *Comptes rendus de l’Academie des Sciences*, Vol. 177, pp. 169–171, 1923. 58
- [Bahr 12] M. Bahreyni Toossi, M. Ghorbani, M. Mehrpouyan, F. Akbari, L. Sobhkhiz Sabet, and A. Soleimani Meigooni. “A Monte Carlo study on tissue dose enhancement in brachytherapy : a comparison between gadolinium and gold nanoparticles”. *Australasian Physical & Engineering Science in Medicine*, pp. 1–9, 2012. 48
- [Barb 12] P. Barberet, F. Vianna, M. Karamitros, T. Brun, N. Gordillo, P. Moretto, S. Incerti, and H. Sez nec. “Monte-Carlo dosimetry on a realistic cell monolayer geometry exposed to alpha particles”. *Physics in Medicine and Biology*, Vol. 57, No. 8, p. 2189, 2012. 94
- [Bart 11] R. Barth, W. Yang, T. Huo, K. Riley, P. Binns, J. Grecula, N. Gupta, J. Rousseau, and H. Elleaume. “Comparison of intracerebral delivery of carboplatin and photon irradiation with an optimized regimen for boron neutron capture therapy of the F98 rat glioma”. *Applied Radiation and Isotopes*, Vol. 69, No. 12, pp. 1813–1816, 2011. 23
- [Berg 05] M. Berger, J. Coursey, M. Zucker, and J. Chang. “Stopping-power and range tables for electrons, protons, and helium ions.”. *NIST Physics Laboratory* : <http://www.nist.gov/pml/data/star/index.cfm>, 2005. 63, 105
- [Berg 63] M. Berger. “Monte Carlo calculation of the penetration and diffusion of fast charged particles”. *Methods in computational physics*, Vol. 1, pp. 135–215, 1963. 75
- [Berg 64] M. Berger and S. Seltzer. “10. TABLES OF ENERGY-LOSSES AND RANGES OF ELECTRONS AND POSITRONS”. *Studies in penetration of charged particles in matter*, No. 39, p. 205, 1964. 63
- [Berg 73] M. Berger and S. Seltzer. “ETRAN Monte Carlo code system for electron and photon transport through extended media”. *Radiation Shielding Information Center (RSIC) Report CCC-107*, Oak Ridge National Laboratory, Oak Ridge, TN, 1973. 75
- [Berg 88] M. Berger and R. Wang. “Multiple-scattering angular deflections and energy-loss straggling”. *Monte Carlo Transport of Electrons and Photons*, pp. 21–56, 1988. 75
- [Bern 09] M. Bernal and J. Liendo. “An investigation on the capabilities of the PENELOPE MC code in nanodosimetry”. *Medical physics*, Vol. 36, p. 620, 2009. 81
- [Bist 04] M.-C. Biston, A. Joubert, J.-F. Adam, H. Elleaume, S. Bohic, A.-M. Charvet, F. Estève, N. Foray, and J. Balosso. “Cure of Fisher Rats Bearing Radioresistant F98 Glioma Treated with cis-Platinum and Irradiated with Monochromatic Synchrotron X-Rays”. *Cancer Research*, Vol. 64, No. 7, pp. 2317–2323, 2004. 22

- [Boby 10] L. Bobyk. *Renforcement de la dose par rayonnement synchrotron et atomes lourds dans le cadre du traitement des gliomes*. PhD thesis, Université Joseph Fourier, Grenoble, France, 2010. 30, 115
- [Boud 05] C. Boudou, J. Balosso, F. Estève, and H. Elleaume. “Monte Carlo dosimetry for synchrotron stereotactic radiotherapy of brain tumours”. *Physics in Medicine and Biology*, Vol. 50, No. 20, p. 4841, 2005. 18, 19, 20, 144, 151
- [Brun 09a] E. Brun, P. Duchambon, Y. Blouquit, G. Keller, L. Sanche, and C. Sicard-Roselli. “Gold nanoparticles enhance the X-ray-induced degradation of human centrin 2 protein”. *Radiation Physics and Chemistry*, Vol. 78, No. 3, pp. 177 – 183, 2009. 27, 47
- [Brun 09b] E. Brun, L. Sanche, and C. Sicard-Roselli. “Parameters governing gold nanoparticle X-ray radiosensitization of DNA in solution”. *Colloids and Surfaces B : Biointerfaces*, Vol. 72, No. 1, pp. 128 – 134, 2009. 25, 27, 28, 29, 126, 141, 146, 147, 149, 151, 154
- [Butt 10] K. Butterworth, J. Coulter, S. Jain, J. Forker, S. McMahon, G. Schettino, K. Prise, F. Currell, and D. Hirst. “Evaluation of cytotoxicity and radiation enhancement using 1.9 nm gold particles : potential application for cancer therapy”. *Nanotechnology*, Vol. 21, p. 295101, 2010. 25, 46
- [Call 79] H. Callisen, A. Norman, and F. Adams. “Absorbed dose in the presence of contrast agents during pediatric cardiac catheterization”. *Medical physics*, Vol. 6, p. 504, 1979. 6
- [Cant 12] I. Canton and G. Battaglia. “Endocytosis at the nanoscale”. *Chemical Society Reviews*, Vol. 41, No. 7, pp. 2718–2739, 2012. 66, 116
- [Carr 06] N. Carron. *An introduction to the passage of energetic particles through matter*. Taylor & Francis, 2006. 59
- [Cart 07] J. D. Carter, N. N. Cheng, Y. Qu, G. D. Suarez, and T. Guo. “Nanoscale Energy Deposition by X-ray Absorbing Nanostructures”. *The Journal of Physical Chemistry B*, Vol. 111, No. 40, pp. 11622–11625, 2007. 42, 47, 151
- [Cham 08] C. Champion, P. Zanotti-Fregonara, and E. Hindie. “CELLDOSE : a Monte Carlo code to assess electron dose distribution-S values for ¹³¹I in spheres of various sizes”. *Journal of Nuclear Medicine*, Vol. 49, No. 1, pp. 151–157, 2008. 77
- [Cham 12] C. Champion, S. Incerti, H. Tran, and Z. El Bitar. “Electron and proton elastic scattering in water vapour”. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B : Beam Interactions with Materials and Atoms*, Vol. 273, pp. 98–101, 2012. 84
- [Chan 08] M.-Y. Chang, A.-L. Shiau, Y.-H. Chen, C.-J. Chang, H. H.-W. Chen, and C.-L. Wu. “Increased apoptotic potential and dose-enhancing effect of gold nanoparticles in combination with single-dose clinical electron beams

- on tumor-bearing mice”. *Cancer Science*, Vol. 99, No. 7, pp. 1479–1484, 2008. [31](#), [47](#)
- [Chao 12] T. Chao, C. Wang, J. Li, C. Li, and C. Tung. “Cellular-and microdosimetry of heterogeneously distributed tritium”. *International Journal of Radiation Biology*, Vol. 88, No. 1-2, pp. 151–157, 2012. [81](#)
- [Chau 04] S. Chauvie, S. Guatelli, V. Ivanchenko, F. Longo, A. Mantero, B. Mascialino, P. Nieminen, L. Pandola, S. Parlati, L. Peralta, *et al.* “Geant4 low energy electromagnetic physics”. In : *Nuclear Science Symposium Conference Record, 2004 IEEE*, pp. 1881–1885, IEEE, 2004. [83](#)
- [Chit 06] B. D. Chithrani, A. A. Ghazani, and W. C. W. Chan. “Determining the Size and Shape Dependence of Gold Nanoparticle Uptake into Mammalian Cells”. *Nano Letters*, Vol. 6, No. 4, pp. 662–668, 2006. [25](#), [26](#), [46](#)
- [Chit 10] D. Chithrani, S. Jelveh, F. Jalali, M. Van Prooijen, C. Allen, R. Bristow, R. Hill, and D. Jaffray. “Gold nanoparticles as radiation sensitizers in cancer therapy”. *Radiation research*, Vol. 173, No. 6, pp. 719–728, 2010. [25](#), [26](#), [46](#)
- [Cho 05] S. H. Cho. “Estimation of tumour dose enhancement due to gold nanoparticles during typical radiation treatments : a preliminary Monte Carlo study”. *Physics in Medicine and Biology*, Vol. 50, No. 15, p. N163, 2005. [v](#), [vii](#), [2](#), [36](#), [39](#), [41](#), [42](#), [47](#), [151](#)
- [Chow 12] J. C. L. Chow, M. K. K. Leung, and D. A. Jaffray. “Monte Carlo simulation on a gold nanoparticle irradiated by electron beams”. *Physics in Medicine and Biology*, Vol. 57, No. 11, p. 3323, 2012. [42](#), [43](#), [46](#), [133](#), [141](#), [151](#)
- [Coch 80] S. T. Cochran, A. Khodadoust, and A. Norman. “Cytogenetic effects of contrast material in patients undergoing excretory urography.”. *Radiology*, Vol. 136, No. 1, pp. 43–46, 1980. [6](#)
- [Coch 82] S. Cochran and A. Norman. “Cytogenetic effects of contrast material diatrizoate versus iothalamate”. *Investigative Radiology*, Vol. 17, No. 2, p. 178, 1982. [6](#)
- [Cord 02] S. Corde, M. Biston, H. Elleaume, F. Esteve, A. Charvet, A. Joubert, V. Ducros, S. Bohic, A. Simionovici, T. Brochard, *et al.* “Lack of cell death enhancement after irradiation with monochromatic synchrotron X rays at the K-shell edge of platinum incorporated in living SQ20B human cells as cis-diamminedichloroplatinum (II)”. *Radiation research*, Vol. 158, No. 6, pp. 763–770, 2002. [22](#)
- [Cord 03] S. Corde, J. Balosso, H. Elleaume, M. Renier, A. Joubert, M.-C. Biston, J.-F. Adam, A.-M. Charvet, T. Brochard, J.-F. Le Bas, F. Estève, and N. Foray. “Synchrotron Photoactivation of Cisplatin Elicits an Extra Number of DNA Breaks That Stimulate RAD51-mediated Repair Pathways”. *Cancer Research*, Vol. 63, No. 12, pp. 3221–3227, 2003. [22](#)

- [Cord 04] S. Corde, A. Joubert, J. Adam, A. Charvet, J. Le Bas, F. Esteve, H. Elleaume, and J. Balosso. “Synchrotron radiation-based experimental determination of the optimal energy for cell radiotoxicity enhancement following photoelectric effect on stable iodinated compounds”. *British journal of cancer*, Vol. 91, No. 3, pp. 544–551, 2004. 14, 15, 21
- [Cost 35] D. Coster and R. D. L. Kronig. “New type of auger effect and its influence on the x-ray spectrum”. *Physica*, Vol. 2, No. 1-12, pp. 13 – 24, 1935. 59
- [Cull 97] D. Cullen, J. Hubbell, and L. Kissel. “EPDL97 : the evaluated photon data library, '97 version”. *UCRL-50400*, Vol. 6, pp. 1–100, 1997. 78
- [Daws 87] P. Dawson, M. Penhaligon, E. Smith, and J. Saunders. “Iodinated contrast agents as radiosensitisers”. *British Journal of Radiology*, Vol. 60, No. 710, pp. 201–203, 1987. 6, 8
- [Deim 09] L. I. Deimling, F. L. Machado, A. G. Welker, L. M. Peres, and R. Santos-Mello. “Micronucleus induction in mouse polychromatic erythrocytes by an X-ray contrast agent containing iodine”. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, Vol. 672, No. 1, pp. 65 – 68, 2009. 6
- [Doug 12] M. Douglass, E. Bezak, and S. Penfold. “Development of a randomized 3D cell model for Monte Carlo microdosimetry simulations”. *Medical Physics*, Vol. 39, No. 6, pp. 3509–3519, 2012. 94, 95
- [Edou 10a] M. Edouard, D. Broggio, Y. Prezado, F. Esteve, H. Elleaume, and J. F. Adam. “Treatment plans optimization for contrast-enhanced synchrotron stereotactic radiotherapy”. *Medical Physics*, Vol. 37, No. 6, pp. 2445–2456, 2010. 19, 20, 151
- [Edou 10b] M. Edouard. *Dosimétrie pour la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron : d’une vision macroscopique aux considérations microscopiques des dépôts d’énergie*. PhD thesis, École Doctorale Ingénierie pour la Santé, la Cognition et l’Environnement, Université de Grenoble, 2010. 19, 144, 151
- [Elle 02] H. Elleaume, A. M. Charvet, S. Corde, F. Estève, and J. F. L. Bas. “Performance of computed tomography for contrast agent concentration measurements with monochromatic x-ray beams : comparison of K-edge versus temporal subtraction”. *Physics in Medicine and Biology*, Vol. 47, No. 18, p. 3369, 2002. 14
- [Elle 99] H. Elleaume, A. Charvet, P. Berkvens, G. Berruyer, T. Brochard, Y. Dabin, M. Dominguez, A. Draperi, S. Fiedler, G. Goujon, G. L. Duc, M. Mattenet, C. Nemoz, M. Perez, M. Renier, C. Schulze, P. Spanne, P. Suortti, W. Thomlinson, F. Esteve, B. Bertrand, and J. L. Bas. “Instrumentation of the ESRF medical imaging facility”. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A : Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment*, Vol. 428, pp. 513 – 527, 1999. 12, 151
- [Elss 07] T. Elsässer and M. Scholz. “Cluster Effects within the Local Effect Model”. *Radiation Research*, Vol. 167, No. 3, pp. 319–329, 2007. 46

- [Fern 12] J. Fernández-Varea, G. González-Muñoz, M. Galassi, K. Wiklund, B. Lind, A. Ahnesjö, and N. Tilly. “Limitations (and merits) of PENLOPE as a track-structure code”. *International Journal of Radiation Biology*, Vol. 88, No. 1-2, pp. 66–70, 2012. 81
- [Fern 93] J. Fernández-Varea, R. Mayol, J. Baró, and F. Salvat. “On the theory and simulation of multiple elastic scattering of electrons”. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B : Beam Interactions with Materials and Atoms*, Vol. 73, No. 4, pp. 447–473, 1993. 78
- [Frie 98] W. Friedland, P. Jacob, H. Paretzke, and T. Stork. “Monte Carlo simulation of the production of short DNA fragments by low-linear energy transfer radiation using higher-order DNA models”. *Radiation research*, Vol. 150, No. 2, pp. 170–182, 1998. 77
- [Gala 12] M. Galassi, C. Champion, P. Weck, R. Rivarola, O. Fojón, and J. Hansen. “Quantum-mechanical predictions of DNA and RNA ionization by energetic proton beams”. *Physics in Medicine and Biology*, Vol. 57, No. 7, p. 2081, 2012. 84
- [Gean] Geant4. “<http://geant4.cern.ch/>”. CERN. 76, 81
- [Goud 40] S. Goudsmit and J. L. Saunderson. “Multiple Scattering of Electrons”. *Phys. Rev.*, Vol. 57, pp. 24–29, Jan 1940. 76
- [Hain 04] J. F. Hainfeld, D. N. Slatkin, and H. M. Smilowitz. “The use of gold nanoparticles to enhance radiotherapy in mice”. *Physics in Medicine and Biology*, Vol. 49, No. 18, p. N309, 2004. v, vii, 2, 25, 29, 30, 31, 36, 42, 47, 73, 151
- [Hain 10] J. F. Hainfeld, F. A. Dilmanian, Z. Zhong, D. N. Slatkin, J. A. Kalef-Ezra, and H. M. Smilowitz. “Gold nanoparticles enhance the radiation therapy of a murine squamous cell carcinoma”. *Physics in Medicine and Biology*, Vol. 55, No. 11, p. 3045, 2010. 31, 33, 38, 47
- [Hero 00] D. Herold, I. Das, C. Stobbe, R. Iyer, J. Chapman, *et al.* “Gold microspheres : a selective technique for producing biologically effective dose enhancement.”. *International journal of radiation biology*, Vol. 76, No. 10, p. 1357, 2000. 24, 29
- [Heuv 10] F. V. den Heuvel, J.-P. Locquet, and S. Nuyts. “Beam energy considerations for gold nano-particle enhanced radiation treatment”. *Physics in Medicine and Biology*, Vol. 55, No. 16, p. 4509, 2010. 37, 42, 47, 48
- [Hsia 07] Y. Hsiao and R. Stewart. “Monte Carlo simulation of DNA damage induction by x-rays and selected radioisotopes”. *Physics in medicine and biology*, Vol. 53, No. 1, p. 233, 2007. 81
- [Hubb 96] J. H. Hubbell and S. M. Seltzer. “NIST Physical Reference Data : X-Ray Mass Attenuation Coefficients. <http://www.nist.gov/pml/data/xraycoef/index.cfm>”. *Radiation and Biomolecular Physics Division, PML, NIST*, 1996. 1, 61

- [Hugt 07] R. Hugtenburg, Z. Chaoui, and J. Pattison. “Microdosimetric event distributions in sub-cellular volumes with a general purpose Monte Carlo code”. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A : Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment*, Vol. 580, No. 1, pp. 157–160, 2007. 81
- [Huo 12] T. Huo, R. Barth, W. Yang, R. Nakkula, R. Koynova, B. Tenchov, A. Chaudhury, L. Agius, T. Boulikas, H. Elleaume, *et al.* “Preparation, Biodistribution and Neurotoxicity of Liposomal Cisplatin following Convection Enhanced Delivery in Normal and F98 Glioma Bearing Rats”. *PloS one*, Vol. 7, No. 11, p. e48752, 2012. 23
- [ICRU 98] ICRU-60. “Fundamental Quantities and Units for Ionizing Radiation”. Tech. Rep., International Commission on Radiation Units and Measurements, 1998. 60, 64
- [Ince 09] S. Incerti, H. Seznec, M. Simon, P. Barberet, C. Habchi, and P. Moretto. “Monte Carlo dosimetry for targeted irradiation of individual cells using a microbeam facility”. *Radiation protection dosimetry*, Vol. 133, No. 1, pp. 2–11, 2009. 94, 95
- [Ince 10] S. Incerti, A. Ivanchenko, M. Karamitros, A. Mantero, P. Moretto, H. Tran, B. Mascialino, C. Champion, V. Ivanchenko, M. Bernal, *et al.* “Comparison of GEANT4 very low energy cross section models with experimental data in water”. *Medical physics*, Vol. 37, p. 4692, 2010. 77, 84
- [Ivan 12] V. Ivanchenko, S. Incerti, Z. Francis, H. Tran, M. Karamitros, M. Bernal, C. Champion, and P. Guèye. “Combination of electromagnetic physics processes for microdosimetry in liquid water with the Geant4 Monte Carlo simulation toolkit”. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B : Beam Interactions with Materials and Atoms*, Vol. 273, pp. 95–97, 2012. 84
- [Iwam 87] K. S. Iwamoto, S. T. Cochran, J. Winter, E. Holburt, R. T. Higashida, and A. Norman. “Radiation dose enhancement therapy with iodine in rabbit VX-2 brain tumors”. *Radiotherapy and Oncology*, Vol. 8, No. 2, pp. 161 – 170, 1987. 9, 30
- [Iwam 90] K. Iwamoto, A. Norman, A. Kagan, M. Wollin, A. Olch, J. Bellotti, M. Ingram, and R. Skillen. “The CT scanner as a therapy machine”. *Radiotherapy and Oncology*, Vol. 19, No. 4, pp. 337–343, 1990. 9
- [Iwam 93] K. Iwamoto, A. Norman, D. Freshwater, M. Ingram, and R. Skillen. “Diagnosis and treatment of spontaneous canine brain tumors with a CT scanner”. *Radiotherapy and Oncology*, Vol. 26, No. 1, pp. 76–78, 1993. 9
- [Jan 04] S. Jan, G. Santin, D. Strul, S. Staelens, K. Assie, D. Autret, S. Avner, R. Barbier, M. Bardies, P. Bloomfield, *et al.* “GATE : a simulation toolkit for PET and SPECT”. *Physics in medicine and biology*, Vol. 49, No. 19, p. 4543, 2004. 76

- [Jones 10] B. L. Jones, S. Krishnan, and S. H. Cho. “Estimation of microscopic dose enhancement factor around gold nanoparticles by Monte Carlo calculations”. *Medical Physics*, Vol. 37, No. 7, pp. 3809–3816, 2010. 37, 39, 40, 41, 42, 47, 151
- [Jorg 07] P. Jorgensen, N. P. Edgington, B. L. Schneider, I. Rupes, M. Tyers, and B. Futcher. “The Size of the Nucleus Increases as Yeast Cells Grow”. *Molecular Biology of the Cell*, Vol. 18, No. 9, pp. 3523–3532, 2007. 93
- [Jost 08] G. Jost, S. Golfier, R. Lawaczek, H.-J. Weinmann, M. Gerlach, L. Cibik, M. Krumrey, D. Fratzscher, J. Rabe, V. Arkadiev, *et al.* “Imaging-therapy computed tomography with quasi-monochromatic x-rays”. *European journal of radiology*, Vol. 68, No. 3, pp. S63–S68, 2008. 12
- [Jost 09] G. Jost, T. Mensing, S. Golfier, R. Lawaczek, H. Pietsch, J. Hütter, L. Cibik, M. Gerlach, M. Krumrey, D. Fratzscher, *et al.* “Photoelectric-enhanced radiation therapy with quasi-monochromatic computed tomography”. *Medical physics*, Vol. 36, p. 2107, 2009. 12
- [Joub 05] A. Joubert, M.-C. Biston, C. Boudou, J.-L. Ravanat, T. Brochard, A.-M. Charvet, F. Estève, J. Balosso, and N. Foray. “Irradiation in presence of iodinated contrast agent results in radiosensitization of endothelial cells : Consequences for computed tomography therapy”. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, Vol. 62, No. 5, pp. 1486 – 1496, 2005. 16
- [Kara 11] M. Karamitros, A. Mantero, S. Incerti, W. Friedland, G. Baldacchino, P. Barberet, M. Bernal, R. Capra, C. Champion, Z. Bitar, *et al.* “Modeling radiation chemistry in the Geant4 toolkit”. *Progress in Nuclear Science and Technology*, Vol. 2, pp. 503–508, 2011. 84
- [Kara 12] M. Karamitros, S. Incerti, and C. Champion. “The Geant4-DNA project”. *Radiotherapy and oncology : journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology*, Vol. 102, pp. 191–192, 2012. 84
- [Karn 99] S. J. Karnas, E. Yu, R. C. McGarry, and J. J. Battista. “Optimal photon energies for IUdR K-edge radiosensitization with filtered x-ray and radioisotope sources”. *Physics in Medicine and Biology*, Vol. 44, No. 10, p. 2537, 1999. 20, 21
- [Kass 08] A. I. Kassis. “Therapeutic Radionuclides : Biophysical and Radiobiologic Principles”. *Seminars in nuclear medicine*, Vol. 38, pp. 358–366, 2008. 69
- [Kawr 00] I. Kawrakow. “Accurate condensed history Monte Carlo simulation of electron transport. I. EGSnrc, the new EGS4 version”. *Medical physics*, Vol. 27, p. 485, 2000. 76
- [Kim 12] J.-K. Kim, S.-J. Seo, H.-T. Kim, K.-H. Kim, M.-H. Chung, K.-R. Kim, and S.-J. Ye. “Enhanced proton treatment in mouse tumors through proton irradiated nanoradiator effects on metallic nanoparticles”. *Physics in Medicine and Biology*, Vol. 57, No. 24, p. 8309, 2012. 31, 32, 34, 47

- [Koba 10] K. Kobayashi, N. Usami, E. Porcel, S. Lacombe, and C. L. Sech. “Enhancement of radiation effect by heavy elements”. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, Vol. 704, pp. 123 – 131, 2010. 27
- [Kong 08] T. Kong, J. Zeng, X. Wang, X. Yang, J. Yang, S. McQuarrie, A. McEwan, W. Roa, J. Chen, and J. Xing. “Enhancement of Radiation Cytotoxicity in Breast-Cancer Cells by Localized Attachment of Gold Nanoparticles”. *small*, Vol. 4, No. 9, pp. 1537–1543, 2008. 25, 26, 47
- [Krau 79] M. Krause and J. Oliver. “Natural widths of atomic K and L levels, Ka X-ray lines and several KLL Auger lines”. *J. Phys. Chem. Ref. Data*, Vol. 8, pp. 329–338, 1979. 176
- [Laco 09] S. Lacombe and C. L. Sech. “Advances in radiation biology : Radiosensitization in DNA and living cells”. *Surface Science*, Vol. 603, pp. 1953 – 1960, 2009. 27
- [Lark 77] F. Larkins. “Semiempirical Auger-electron energies for elements 10 ≤ Z ≤ 100”. *Atomic Data and Nuclear Data Tables*, Vol. 20, No. 4, pp. 311 – 387, 1977. 176
- [Last 93] B. Laster, W. Thomlinson, and R. Fairchild. “Photon activation of iodo-deoxyuridine : biological efficacy of Auger electrons”. *Radiation research*, Vol. 133, No. 2, pp. 219–224, 1993. 20, 21
- [Lech 11] E. Lechtman, N. Chattopadhyay, Z. Cai, S. Mashouf, R. Reilly, and J. P. Pignol. “Implications on clinical scenario of gold nanoparticle radiosensitization in regards to photon energy, nanoparticle size, concentration and location”. *Physics in Medicine and Biology*, Vol. 56, No. 15, p. 4631, 2011. 37, 42, 44, 45, 46, 47, 48, 151
- [Leun 11] M. K. K. Leung, J. C. L. Chow, B. D. Chithrani, M. J. G. Lee, B. Oms, and D. A. Jaffray. “Irradiation of gold nanoparticles by x-rays : Monte Carlo simulation of dose enhancements and the spatial properties of the secondary electrons production”. *Medical Physics*, Vol. 38, No. 2, pp. 624–631, 2011. 42, 43, 46, 47, 151
- [Lewi 10] D. Lewis, C. Bruce, S. Bohic, P. Cloetens, S. Hammond, D. Arbon, S. Blair-Reid, Z. Pikramenou, and B. Kysela. “Intracellular synchrotron nanoimaging and DNA damage/genotoxicity screening of novel lanthanide-coated nanovectors”. *Nanomedicine*, Vol. 5, No. 10, pp. 1547–1557, 2010. 29, 43, 156
- [Lux 11] F. Lux, A. Mignot, P. Mowat, C. Louis, S. Dufort, C. Bernhard, F. Denat, F. Boschetti, C. Brunet, R. Antoine, P. Dugourd, S. Laurent, L. V. Elst, R. Muller, L. Sancey, V. Josserand, J.-L. Coll, V. Stupar, E. Barbier, C. Rémy, A. Broisat, C. Ghezzi, G. Le Duc, S. Roux, P. Perriat, and O. Tillement. “Ultrasmall Rigid Particles as Multimodal Probes for Medical Applications”. *Angewandte Chemie International Edition*, Vol. 50, No. 51, pp. 12299–12303, 2011. 65

- [Math 07] D. Mathieu, R. Lecomte, A. Tsanaclis, A. Larouche, and D. Fortin. “Standardization and detailed characterization of the syngeneic Fischer/F98 glioma model”. *The Canadian journal of neurological sciences*, Vol. 34, No. 3, pp. 296–306, 2007. 66
- [Mats 80] H. Matsudaira, A. Ueno, and I. Furuno. “Iodine contrast medium sensitizes cultured mammalian cells to X rays but not to gamma rays”. *Radiation research*, Vol. 84, pp. 144–148, 1980. 8
- [McMa 08] S. J. McMahon, M. H. Mendenhall, S. Jain, and F. Currell. “Radiotherapy in the presence of contrast agents : a general figure of merit and its application to gold nanoparticles”. *Physics in Medicine and Biology*, Vol. 53, No. 20, p. 5635, 2008. 37, 42, 46, 47
- [McMa 11a] S. McMahon, W. Hyland, M. Muir, J. Coulter, S. Jain, K. Butterworth, G. Schettino, G. Dickson, A. Hounsell, J. O’Sullivan, *et al.* “Biological consequences of nanoscale energy deposition near irradiated heavy atom nanoparticles”. *Scientific Reports*, Vol. 1, 2011. 37, 42, 46, 47, 151
- [McMa 11b] S. J. McMahon, W. B. Hyland, E. Brun, K. T. Butterworth, J. A. Coulter, T. Douki, D. G. Hirst, S. Jain, A. P. Kavanagh, Z. Krpetic, M. H. Mendenhall, M. F. Muir, K. M. Prise, H. Requardt, L. Sanche, G. Schettino, F. J. Currell, and C. Sicard-Roselli. “Energy Dependence of Gold Nanoparticle Radiosensitization in Plasmid DNA”. *The Journal of Physical Chemistry C*, Vol. 115, No. 41, pp. 20160–20167, 2011. 25, 28, 29, 46, 47, 126, 145, 146, 149, 151, 154
- [MCNP] MCNPX. “<http://mcnpx.lanl.gov>”. *Los Alamos National Laboratory*. 76
- [Mell 83] R. Mello, H. Callisen, J. Winter, A. Kagan, and A. Norman. “Radiation dose enhancement in tumors with iodine”. *Medical physics*, Vol. 10, p. 75, 1983. 6, 7, 8, 9, 16, 30
- [Mesa 99] A. V. Mesa, A. Norman, T. D. Solberg, J. J. Demarco, and J. B. Smathers. “Dose distributions using kilovoltage x-rays and dose enhancement from iodine contrast agents”. *Physics in Medicine and Biology*, Vol. 44, No. 8, p. 1955, 1999. 11, 16
- [Mila 12] I. Miladi, G. Le Duc, D. Kryza, A. Berniard, P. Mowat, S. Roux, J. Taleb, P. Bonazza, P. Perriat, F. Lux, *et al.* “Biodistribution of ultra small gadolinium-based nanoparticles as theranostic agent : Application to brain tumors”. *Journal of Biomaterials Applications*, 2012. 48
- [Mont 09] M. Montenegro, S. N. Nahar, A. K. Pradhan, K. Huang, and Y. Yu. “Monte Carlo Simulations and Atomic Calculations for Auger Processes in Biomedical Nanotheranostics”. *The Journal of Physical Chemistry A*, Vol. 113, No. 45, pp. 12364–12369, 2009. 37, 38
- [Nanao] NanoH. <http://www.nano-h.com/>. 65
- [Nanob] Nanoprobes. <http://www.nanoprobes.com/>. 73, 115
- [Nath 90] R. Nath, P. Bongiorno, and S. Rockwell. “Iododeoxyuridine radiosensitization by low-and high-energy photons for brachytherapy dose rates”. *Radiation research*, Vol. 124, No. 3, pp. 249–258, 1990. 20

-
- [Nikj 02] H. Nikjoo, C. Bolton, R. Watanabe, M. Terrissol, P. O'Neill, and D. Goodhead. "Modelling of DNA damage induced by energetic electrons (100 eV to 100 keV)". *Radiation protection dosimetry*, Vol. 99, No. 1-4, pp. 77–80, 2002. 65, 126, 133
- [Nikj 06] H. Nikjoo, S. Uehara, D. Emfietzoglou, and F. Cucinotta. "Track-structure codes in radiation research". *Radiation Measurements*, Vol. 41, No. 9, pp. 1052–1074, 2006. 77
- [Nikj 10] H. Nikjoo and L. Lindborg. "RBE of low energy electrons and photons". *Physics in medicine and biology*, Vol. 55, No. 10, p. R65, 2010. 63, 64, 65, 126, 133
- [Norm 78a] A. Norman, F. H. Adams, and R. F. Riley. "Cytogenetic Effects of Contrast Media and Triiodobenzoic Acid Derivatives in Human Lymphocytes". *Radiology*, Vol. 129, No. 1, pp. 199–203, 1978. 6
- [Norm 78b] D. Norman, E. A. Stevens, S. D. Wing, V. Levin, and T. H. Newton. "Quantitative Aspects of Contrast Enhancement in Cranial Computed Tomography". *Radiology*, Vol. 129, No. 3, pp. 683–688, 1978. 16
- [Norm 91] A. Norman, K. Iwamoto, and S. Cochran. "Iodinated contrast agents for brain tumor localization and radiation dose enhancement". *Investigative radiology*, Vol. 26, 1991. 8
- [Norm 97] A. Norman, M. Ingram, R. Skillen, D. Freshwater, K. Iwamoto, and T. Solberg. "X-ray phototherapy for canine brain masses". *Radiation Oncology Investigations*, Vol. 5, No. 1, pp. 8–14, 1997. 9, 10, 17
- [Pan 03] X. Pan, P. Cloutier, D. Hunting, and L. Sanche. "Dissociative Electron Attachment to DNA". *Phys. Rev. Lett.*, Vol. 90, p. 208102, May 2003. 48
- [Pelo 05] D. Pelowitz *et al.* "MCNPX user's manual version 2.5.0". *Los Alamos National Laboratory*, 2005. 76
- [Perk 91a] S. Perkins, D. Cullen, M. Chen, J. Rathkopf, J. Scofield, and J. Hubbell. "Tables and graphs of atomic subshell and relaxation data derived from the LLNL Evaluated Atomic Data Library (EADL), Z= 1–100". Tech. Rep., Lawrence Livermore National Lab., CA (United States), 1991. 78
- [Perk 91b] S. Perkins, D. Cullen, and S. Seltzer. "Tables and graphs of electron-interaction cross sections from 10 eV to 100 GeV derived from the LLNL Evaluated Electron Data Library (EEDL), Z= 1 to 100". *Unknown*, Vol. 1, 1991. 84
- [Perl 12] J. Perl, J. Shin, J. Schümann, B. Faddegon, and H. Paganetti. "TOPAS : An innovative proton Monte Carlo platform for research and clinical applications". *Medical physics*, Vol. 39, p. 6818, 2012. 76
- [Podg 05] E. Podgorsak *et al.* *Radiation oncology physics*. Citeseer, 2005. 56, 57
- [Polf 11] J. C. Polf, L. F. Bronk, W. H. P. Driessen, W. Arap, R. Pasqualini, and M. Gillin. "Enhanced relative biological effectiveness of proton radiotherapy in tumor cells with internalized gold nanoparticles". *Applied Physics Letters*, Vol. 98, No. 19, p. 193702, 2011. 34

- [Porc 10] E. Porcel, S. Liehn, H. Remita, N. Usami, K. Kobayashi, Y. Furusawa, C. L. Sech, and S. Lacombe. “Platinum nanoparticles : a promising material for future cancer therapy ?”. *Nanotechnology*, Vol. 21, No. 8, p. 085103, 2010. [25](#), [27](#), [151](#)
- [Port 78] F. T. Porter and M. S. Freedman. “Recommended atomic electron binding energies, 1s to 6p[sub 3/2], for the heavy elements, Z=84 to 103”. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, Vol. 7, No. 4, pp. 1267–1284, 1978. [176](#)
- [Prad 09] A. K. Pradhan, S. N. Nahar, M. Montenegro, Y. Yu, H. L. Zhang, C. Sur, M. Mrozik, and R. M. Pitzer. “Resonant X-ray Enhancement of the Auger Effect in High-Z Atoms, Molecules, and Nanoparticles : Potential Biomedical Applications”. *The Journal of Physical Chemistry A*, Vol. 113, No. 45, pp. 12356–12363, 2009. [39](#)
- [Regu 98] D. Regulla, L. Hieber, and M. Seidenbusch. “Physical and biological interface dose effects in tissue due to X-ray-induced release of secondary radiation from metallic gold surfaces”. *Radiation research*, Vol. 150, No. 1, pp. 92–100, 1998. [24](#)
- [Reyn 07] N. Reynaert, S. van der Marck, D. Schaart, W. V. der Zee, C. V. Vliet-Vroegindewij, M. Tomsej, J. Jansen, B. Heijmen, M. Coghe, and C. D. Wagter. “Monte Carlo treatment planning for photon and electron beams”. *Radiation Physics and Chemistry*, Vol. 76, No. 4, pp. 643 – 686, 2007. [75](#), [76](#)
- [Roge 95] D. W. O. Rogers, B. A. Faddegon, G. X. Ding, C.-M. Ma, J. We, and T. R. Mackie. “BEAM : A Monte Carlo code to simulate radiotherapy treatment units”. *Medical Physics*, Vol. 22, No. 5, pp. 503–524, 1995. [76](#)
- [Rose 99] J. Rose, A. Norman, M. Ingram, C. Aoki, T. Solberg, and A. Mesa. “First radiotherapy of human metastatic brain tumors delivered by a computerized tomography scanner (CTRx)”. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, Vol. 45, No. 5, pp. 1127 – 1132, 1999. [10](#), [11](#), [16](#)
- [Rous 07] J. Rousseau, C. Boudou, R. F. Barth, J. Balosso, F. Estève, and H. Elleaume. “Enhanced Survival and Cure of F98 Gliomas Bearing Rats following Intracerebral Delivery of Carboplatin in Combination with Photon Irradiation”. *Clinical Cancer Research*, Vol. 13, No. 17, pp. 5195–5201, 2007. [16](#), [17](#), [22](#), [23](#)
- [Rous 09a] J. Rousseau, J.-F. Adam, P. Deman, T.-D. Wu, J.-L. Guerquin-Kern, B. Gouget, R. F. Barth, F. Estève, and H. Elleaume. “Intracerebral delivery of 5-iodo-2-deoxyuridine in combination with synchrotron stereotactic radiation for the therapy of the F98 glioma”. *Journal of Synchrotron Radiation*, Vol. 16, No. 4, pp. 573–581, Jul 2009. [22](#)
- [Rous 09b] J. Rousseau, R. F. Barth, M. L. Moeschberger, and H. Elleaume. “Efficacy of Intracerebral Delivery of Carboplatin in Combination With Photon

- Irradiation for Treatment of F98 Glioma-Bearing Rats”. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, Vol. 73, No. 2, pp. 530 – 536, 2009. 22, 23
- [Rous 10] J. Rousseau, R. Barth, M. Fernandez, J.-F. Adam, J. Balosso, F. Estève, and H. Elleaume. “Efficacy of intracerebral delivery of cisplatin in combination with photon irradiation for treatment of brain tumors”. *Journal of Neuro-Oncology*, Vol. 98, pp. 287–295, 2010. 22, 23
- [Salv 05] F. Salvat, A. Jablonski, and C. Powell. “ELSEPA - Dirac partial-wave calculation of elastic scattering of electrons and positrons by atoms, positive ions and molecules”. *Computer physics communications*, Vol. 165, No. 2, pp. 157–190, 2005. 78, 81
- [Salv 06] F. Salvat, J. Fernandez-Varea, and J. Sempau. “PENELOPE-2006 : A code system for Monte Carlo simulation of electron and photon transport”. In : *Workshop Proceedings*, p. 7, 2006. 62, 76, 78, 79
- [Sanc 09] L. Sanche. “Biological chemistry : Beyond radical thinking”. *Nature*, Vol. 461, No. 7262, pp. 358–359, 2009. 48
- [Scho 94] M. Scholz and G. Kraft. “Calculation of Heavy Ion Inactivation Probabilities Based on Track Structure, X Ray Sensitivity and Target Size”. *Radiation Protection Dosimetry*, Vol. 52, No. 1-4, pp. 29–33, 1994. 46
- [Selt 86] S. Seltzer and M. Berger. “Bremsstrahlung energy spectra from electrons with kinetic energy 1 keV-10 GeV incident on screened nuclei and orbital electrons of neutral atoms with $Z = 1-100$ ”. *Atomic Data and Nuclear Data Tables*, Vol. 35, No. 3, pp. 345–418, 1986. 78
- [Seme 03] V. Semenenko, J. Turner, and T. Borak. “NOREC, a Monte Carlo code for simulating electron tracks in liquid water”. *Radiation and environmental biophysics*, Vol. 42, No. 3, pp. 213–217, 2003. 77
- [Seme 06] V. A. Semenenko and R. D. Stewart. “Fast Monte Carlo simulation of DNA damage formed by electrons and light ions”. *Physics in Medicine and Biology*, Vol. 51, No. 7, p. 1693, 2006. 37
- [Sevi 72] K. Sevier. *Low energy electron spectrometry*. Wiley-Interscience, 1972. 176
- [Simo 08] A. Simon-Deckers, E. Brun, B. Gouget, M. Carrière, and C. Sicard-Roselli. “Impact of gold nanoparticles combined to X-Ray irradiation on bacteria”. *Gold Bulletin*, Vol. 41, No. 2, pp. 187–194, 2008. 25, 27
- [Sinc 68] W. Sinclair. “Cysteamine : differential x-ray protective effect on Chinese hamster cells during the cell cycle”. *Science*, Vol. 159, pp. 442–444, 1968. 91
- [Sinc 72] W. Sinclair. “CELL CYCLE DEPENDENCE ON THE LETHAL RADIATION RESPONSE IN MAMMALIAN CELLS.”. Tech. Rep., Argonne National Lab., Ill., 1972. 91

- [Solb 92] T. D. Solberg, K. S. Iwamoto, and A. Norman. “Calculation of radiation dose enhancement factors for dose enhancement therapy of brain tumours”. *Physics in Medicine and Biology*, Vol. 37, No. 2, p. 439, 1992. 7, 8
- [Step 74] M. A. Stephens. “EDF statistics for goodness of fit and some comparisons”. *Journal of the American Statistical Association*, Vol. 69, No. 347, pp. 730–737, 1974. 73
- [Stew 01] R. Stewart, W. Wilson, J. McDonald, and D. Strom. “Microdosimetric properties of ionizing electrons in water : a test of the PENELOPE code system”. *Physics in medicine and biology*, Vol. 47, No. 1, p. 79, 2001. 81
- [Stup 09] R. Stupp, M. E. Hegi, W. P. Mason, M. J. van den Bent, M. J. Taphoorn, R. C. Janzer, S. K. Ludwin, A. Allgeier, B. Fisher, K. Belanger, P. Hau, A. A. Brandes, J. Gijtenbeek, C. Marosi, C. J. Vecht, K. Mokhtari, P. Wesseling, S. Villa, E. Eisenhauer, T. Gorlia, M. Weller, D. Lacombe, J. G. Cairncross, and R.-O. Mirimanoff. “Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study : 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial”. *The Lancet Oncology*, Vol. 10, No. 5, pp. 459 – 466, 2009. 1
- [Tera 63] T. Terasima and L. Tolmach. “Variations in several responses of HeLa cells to X-irradiation during the division cycle”. *Biophysical journal*, Vol. 3, No. 1, pp. 11–33, 1963. 91
- [Terr 90] M. Terrissol and A. Beaudre. “Simulation of space and time evolution of radiolytic species induced by electrons in water”. *Radiation Protection Dosimetry*, Vol. 31, No. 1-4, pp. 175–177, 1990. 77
- [Tubi 90] M. Tubiana. *Introduction to radiobiology*. Taylor & Francis, 1990. 60
- [Turk 09] B. Turk and V. Turk. “Lysosomes as ‘Suicide Bags’ in Cell Death : Myth or Reality?”. *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 284, No. 33, pp. 21783–21787, 2009. 120
- [Vilc 07] M. Vilches, S. Garcia-Pareja, R. Guerrero, M. Anguiano, and A. Lallena. “Monte Carlo simulation of the electron transport through thin slabs : A comparative study of penelope, geant3, geant4, egsnrc and mcnp”. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B : Beam Interactions with Materials and Atoms*, Vol. 254, No. 2, pp. 219 – 230, 2007. 77
- [Vink 12] S. Vinko, O. Ciricosta, B. Cho, K. Engelhorn, H. Chung, C. Brown, T. Burian, J. Chalupský, R. Falcone, C. Graves, *et al.* “Creation and diagnosis of a solid-density plasma with an X-ray free-electron laser”. *Nature*, Vol. 482, No. 7383, pp. 59–62, 2012. 39
- [Wen 08] P. Y. Wen and S. Kesari. “Malignant Gliomas in Adults”. *New England Journal of Medicine*, Vol. 359, No. 5, pp. 492–507, 2008. 1

- [Xiao 11] F. Xiao, Y. Zheng, P. Cloutier, Y. He, D. Hunting, and L. Sanche. “On the role of low-energy electrons in the radiosensitization of DNA by gold nanoparticles”. *Nanotechnology*, Vol. 22, No. 46, p. 465101, 2011. 48
- [Zhan 09] S. Zhang, J. Gao, T. Buchholz, Z. Wang, M. Salehpour, R. Drezek, and T.-K. Yu. “Quantifying tumor-selective radiation dose enhancements using gold nanoparticles : a monte carlo simulation study”. *Biomedical Micro-devices*, Vol. 11, pp. 925–933, 2009. v, vii, 2, 41, 42, 47
- [Zhen 09] Y. Zheng and L. Sanche. “Gold nanoparticles enhance DNA damage induced by anti-cancer drugs and radiation”. *Radiation research*, Vol. 172, No. 1, pp. 114–119, 2009. 48

Annexes

Annexe A

Tables de données et formules

A.1 Caractéristiques des éléments

A.1.1 Propriétés physiques

Les propriétés physiques des éléments d'intérêt utilisés dans ces travaux, qui composent l'eau, la matière organique, les nanoparticules et les agents de contraste, sont décrites dans le tableau A.1.

Table A.1: Propriétés physiques pour différents éléments d'intérêt.

Symbole	Numéro atomique (Z)	Masse atomique (g/mol)	Masse volumique (g/cm ³)
H	1	1,007825	0,0899.10 ⁻³
C	6	12,011	1,8 à 3,5 (selon forme)
N	7	14,0067	1,2506.10 ⁻³
O	8	15,9994	1,429.10 ⁻³
Si	14	28,0855	2,33
P	15	30,9737	1,82 à 2,69 (selon forme)
I	53	126,9045	4,93 (solide)
Gd	64	157,25	7,901
Pt	78	195,084	21,45
Au	79	196,9666	19,3

Pour l'eau liquide, la masse atomique de la molécule est 18,015 g/mol et la masse volumique est 1,000 g/cm³ (définie à 4°C).

A.1.2 Énergies de liaison

Les énergies de liaison des couches et sous-couches atomiques pour ces différents éléments peuvent être trouvées dans le tableau A.2.

A.1.3 Taux de relaxation radiative et non-radiative

Les taux de production de fluorescence (ω) et de production Coster-Krönig (f) pour différents éléments d'intérêt peuvent être trouvés dans le tableau A.3.

ANNEXE A. TABLES DE DONNÉES ET FORMULES

Table A.2: Énergie de liaison (en keV) des couches et sous-couches atomiques de K à N₅ pour différents éléments d'intérêt [Lark 77, Sevi 72, Port 78].

Élément	K	L ₁	L ₂	L ₃	M ₁	M ₂	M ₃	M ₄	M ₅
1 H	0,0136								
6 C	0,2838	0,0180	0,0064	0,0064					
7 N	0,4016	0,0244	0,0092	0,0092					
8 O	0,5320	0,0285	0,0071	0,0071					
14 Si	1,8389	0,1487	0,0995	0,0989	0,0076	0,0030	0,0030		
15 P	2,1455	0,1893	0,1362	0,1353	0,0162	0,0099	0,0099		
53 I	33,1694	5,1881	4,8521	4,5571	1,0721	0,9305	0,8746	0,6313	0,6194
64 Gd	50,239	8,376	7,931	7,243	1,888	1,695	1,551	1,225	1,193
78 Pt	78,3948	13,8805	13,2726	11,5638	3,2976	3,0270	2,6453	2,2015	2,1211
79 Au	80,7249	14,3528	13,7336	11,9187	3,4249	3,1478	2,743	2,2911	2,2057
Élément	N ₁	N ₂	N ₃	N ₄	N ₅				
53 I	0,1864	0,1227	0,1227	0,0496	0,0496				
64 Gd	0,383	0,311	0,272	0,147	0,142				
78 Pt	0,7240	0,6076	0,5191	0,3307	0,3138				
79 Au	0,7588	0,6437	0,5454	0,352	0,3339				

Table A.3: Taux de relaxation par fluorescence (ω) et de relaxation non-radiative CK (f) pour des lacunes en couche K et L de plusieurs éléments [Krau 79].

Lacune	K	L ₁			L ₂		L ₃
Rendement	ω_K	ω_{L_1}	f ₁₂	f ₁₃	ω_{L_2}	f ₂₃	ω_{L_3}
1 H	0,00002						
6 C	0,0026						
7 N	0,0043						
8 O	0,0069						
14 Si	0,050	0,000044	0,32	0,64	0,00037		0,00038
15 P	0,064	0,000051	0,32	0,63	0,00031		0,00031
53 I	0,882	0,04437	0,18	0,28	0,079	0,154	0,079
64 Gd	0,932	0,07996	0,19	0,3	0,158	0,147	0,155
78 Pt	0,959	0,1168	0,14	0,50	0,321	0,124	0,306
79 Au	0,96	0,1098	0,14	0,53	0,334	0,122	0,32

Le complémentaire pour atteindre 100 % des relaxations est la production Auger, non-mentionnée dans ce tableau. Le taux f₁₂ par exemple correspond au rendement d'émission d'un électron lors d'une transition de L₂ vers L₁ pour une lacune en couche L₁.

A.1.4 Tables de production des rayonnements de fluorescence

Les énergies et les intensités des raies de fluorescence, pour 100 lacunes en couche K, peuvent être trouvées dans le tableau A.4. Seuls le gadolinium et l'or sont reportés ici.

Table A.4: Énergies et intensités des raies de fluorescence pour 100 lacunes en couche K, pour les atomes de gadolinium et d'or.

Transition	Or		Gadolinium	
	Énergie (keV)	Intensité	Énergie (keV)	Intensité
$K_{\alpha 1}$	68,806	46,4	42,996	48,3
$K_{\alpha 2}$	66,991	27,5	42,309	26,8
$K_{\alpha 3}$	66,372	0,0326	41,864	0,00821
$K_{\beta 1}$	77,982	10,7	48,695	9,27
$K_{\beta 2}$	80,13	3,84	49,959	3,1
$K_{\beta 3}$	77,577	5,57	48,551	4,79
$K_{\beta 4}$	80,382	0,08	50,099	1,2
$K_{\beta 5}$	78,476	0,285	49,038	0,146
$KO_{2,3}$	80,66	0,62		
$L_{\alpha 1}$	9,713	11,6	6,058	6,3
$L_{\alpha 2}$	9,628	1,3	6,026	0,7
$L_{\beta 1}$	11,443	7,8	6,713	3,9
$L_{\beta 2,15}$	11,576	2,82	7,102	1,32
$L_{\beta 3}$	11,61	0,099	6,832	0,126
$L_{\beta 4}$	11,205	0,078	6,687	0,077
$L_{\beta 5}$	11,916	0,268	7,243	0,0108
$L_{\beta 6}$	11,16	0,17	6,867	0,063
$L_{\gamma 1}$	13,382	1,56	7,79	0,67
$L_{\gamma 2}$	13,709	0,025	8,087	0,024
$L_{\gamma 3}$	13,807	0,034	8,105	0,034
$L_{\gamma 6}$	13,731	0,209	7,93	0,0055
L_{η}	10,309	0,172	6,05	0,092
L_I	8,494	0,61	5,362	0,266

A.1.5 Nomenclature des transitions atomiques

La correspondance entre la notation des rayonnements de fluorescence et la transition atomique mise en jeu peut être trouvée dans le tableau A.5.

Table A.5: Nomenclature utilisée pour la désignation classique des rayonnements de fluorescence et la transition atomique de laquelle ils sont issus.

Désignation classique	Couches atomiques associées (initiale - finale)
$K_{\alpha 1}$	K - L ₃
$K_{\alpha 2}$	K - L ₂
$K_{\alpha 3}$	K - L ₁
$K_{\beta 1}$	K - M ₃
$K_{\beta 2}$	K - N ₂ N ₃
$K_{\beta 3}$	K - M ₂
$K_{\beta 4}$	K - N ₄ N ₅
$K_{\beta 5}$	K - M ₄ M ₅
$KO_{2,3}$	K - O ₂ O ₃
$KP_{2,3}$	K - P ₂ P ₃
$L_{\alpha 1}$	L ₃ - M ₅
$L_{\alpha 2}$	L ₃ - M ₄
$L_{\beta 1}$	L ₂ - M ₄
$L_{\beta 2,15}$	L ₃ - N ₄ N ₅
$L_{\beta 3}$	L ₁ - M ₁
$L_{\beta 4}$	L ₁ - M ₂
$L_{\beta 5}$	L ₃ - O ₄ O ₅
$L_{\beta 6}$	L ₃ - N ₁
$L_{\gamma 1}$	L ₂ - N ₄
$L_{\gamma 2}$	L ₁ - N ₂
$L_{\gamma 3}$	L ₁ - N ₃
$L_{\gamma 6}$	L ₂ - O ₄
L_{η}	L ₂ - M ₁
L_I	L ₃ - M ₁

Le Tableau A.6 permet d'associer les raies de fluorescences en fonction de la lacune initiale (K ou L).

Table A.6: Raies de fluorescences associées à la couche atomique initiale présentant une lacune.

Lacune	Raies RX associées
K	$K_{\alpha 1}, K_{\alpha 2}, K_{\alpha 3}, K_{\beta 1}, K_{\beta 2}, K_{\beta 3}, K_{\beta 4}, K_{\beta 5}, KO_{2,3}, KP_{2,3}$
L ₁	$L_{\beta 3}, L_{\beta 4}, L_{\gamma 2}, L_{\gamma 3}$
L ₂	$L_{\beta 1}, L_{\eta}, L_{\gamma 1}, L_{\gamma 6}$
L ₃	$L_{\alpha 1}, L_{\alpha 2}, L_{\beta 2,15}, L_{\beta 5}, L_{\beta 6}, L_I$

A.2 Formule de Bethe et Bloch

La formule de Bethe et Bloch décrit la perte d'énergie collisionnelle $\frac{dE}{dx}$ d'une particule chargée de masse M , de vitesse v et de charge z (en unité de charge électronique) traversant la matière. Elle s'exprime de la manière suivante :

$$-\frac{dE}{dx} = Kz^2 \frac{Z}{A} \frac{1}{\beta^2} \left[\frac{1}{2} \ln \left(\frac{2m_e c^2 \beta^2 \gamma^2 T_{max}}{I^2} \right) - \beta^2 - \frac{\delta(\beta\gamma)}{2} \right] \text{ (MeV.cm}^2\text{/g)}$$

Où $\beta = \frac{v}{c}$ et $\beta\gamma = \frac{p}{Mc}$,

Z est le numéro atomique du milieu,

A est la masse atomique du milieu (g/mol),

m_e est la masse de l'électron (MeV/c²),

I est l'énergie moyenne d'excitation du milieu absorbant (eV),

T_{max} est l'énergie cinétique maximale transférable à un électron libre lors d'une collision,

et $\frac{K}{A} = 0,307 \text{ MeV cm}^2\text{/g}$ pour $A = 1 \text{ g/mol}$.

Annexe B

Figures complémentaires

B.1 Analyse des spectres

B.1.1 Spectres d'électrons arrivant au noyau cellulaire

Sur la Figure B.1 est reportée une représentation en trois dimensions des spectres d'électrons arrivant au noyau, dans la géométrie cellulaire, pour les énergies de faisceau de 25 keV à 80 keV. Les spectres sont obtenus dans la condition des cellules *incubées non-rincées* en présence de gadolinium et normalisés par rapport aux spectres obtenus dans l'eau.

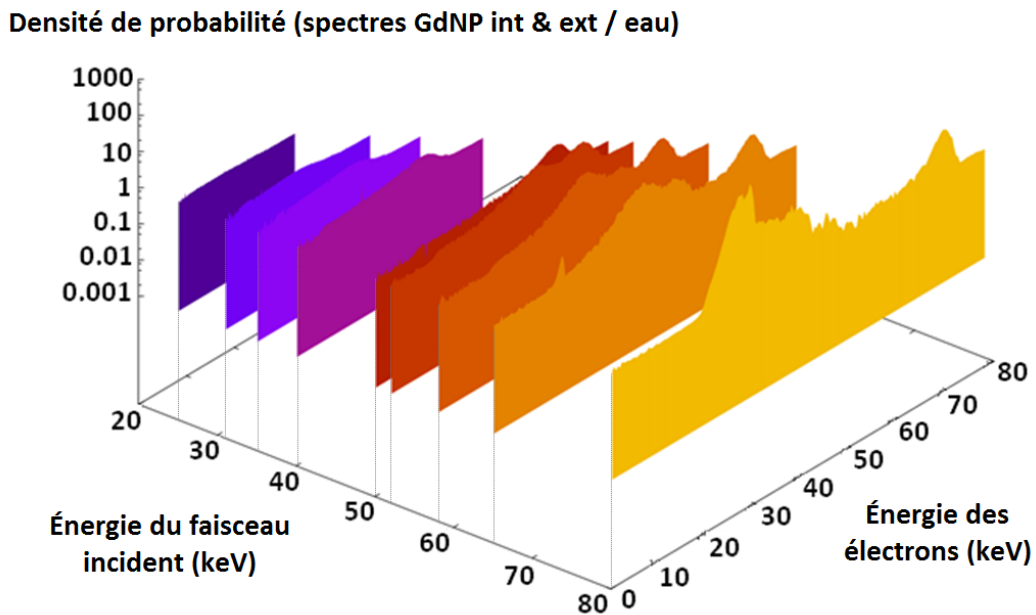


Figure B.1: Comparaison des spectres électrons arrivant au noyau, dans la géométrie cellulaire, pour les énergies de 25 keV à 80 keV. Condition *incubées non-rincées* normalisée par rapport à l'eau.

Ces spectres ont été étudiés de manière quantitative dans la section 3.3.4.

B.1.2 Spectres photons et électrons : GdNP

Sur la Figure 4.2 est reporté un exemple des spectres d'électrons (A) et de photons (B) secondaires émis par une GdNP de 10 nm de diamètre. De la même manière que pour les spectres détaillés en section 4.2.2, nous avons utilisé une énergie au dessus du seuil K du gadolinium pour l'irradiation de la GdNP, à 52 keV dans cet exemple.

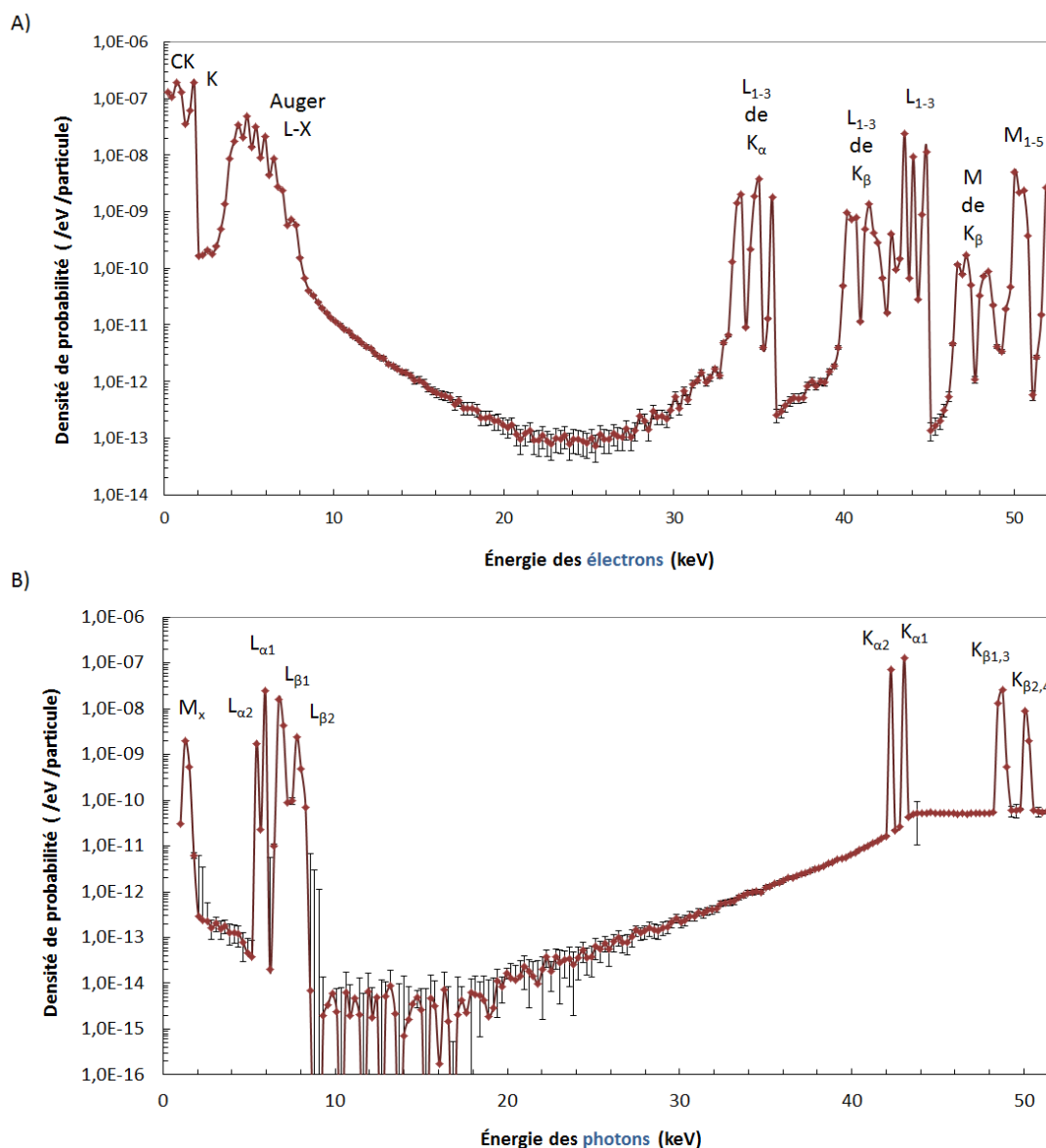


Figure B.2: Comparaison des spectres électrons (A) et photons (B) pour une nanoparticule de gadolinium de 10 nm de diamètre. L'énergie d'irradiation est de 52 keV.

À partir des tables de relaxations atomiques (cf. Table A.4) et des énergies de liaison (cf. Table A.2) nous avons pu retrouver les raies caractéristiques propres à l'atome de gadolinium. Les électrons émis en plus grand nombre sont les photo-électrons K et les électrons Coster-Krönig (ou électrons Auger provenant des lacunes sur les couches L,

M et les couches supérieures). Le pic de photo-électrons K est plus intense d'environ un ordre de grandeur par rapport aux électrons Auger K et aux photo-électrons L, et de deux ordres de grandeurs par rapport aux photo-électrons M ou L de K_α . Le spectre est très semblable à celui observé en Figure 4.2 car dans les deux cas nous nous plaçons juste au dessus du seuil K des atomes.

B.1.3 Spectres d'électrons : fonction de la taille d'une GdNP

Sur la Figure B.3 est reporté un exemple des spectres d'électrons secondaires émis par une GdNP en fonction de son diamètre. L'irradiation est effectuée à 85 keV.

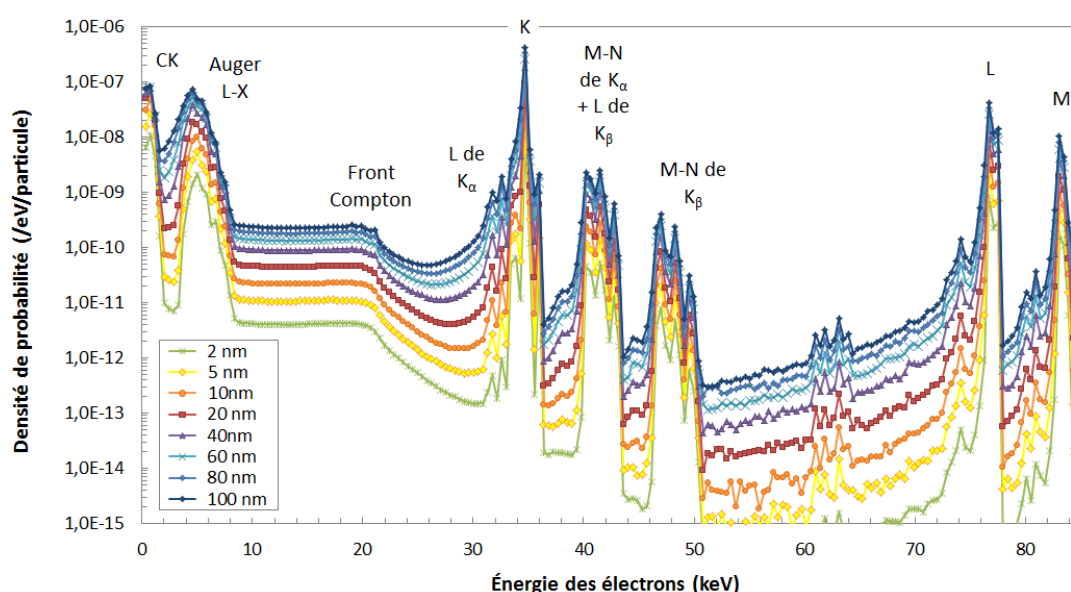


Figure B.3: Comparaison des spectres d'électrons obtenus lors de l'irradiation d'une GdNP à 85 keV, en fonction du diamètre de cette dernière (de 2 nm à 100 nm).

Par rapport aux spectres décrits en Figure 4.5, nous avons ici utilisé une énergie éloignée du seuil K du gadolinium pour l'irradiation de la GdNP. Comme cela avait déjà été mentionné en section 3.3.4, nous pouvons remarquer que, par rapport au spectre à 55 keV, les pics associés aux photons primaires se sont déplacés dans le spectre alors que ceux liés aux relaxations du gadolinium ne sont pas modifiés. L'intensité des spectres est globalement plus faible à 85 keV par rapport à 55 keV, mais nous retrouvons de la même manière l'influence de la taille de la nanoparticule.

B.1.4 Analyse quantitative des spectres : fonction de la taille

Nous avons reporté ici, l'ensemble des résultats de l'étude quantitative faite en fonction de la taille des nanoparticules, pour trois énergies différentes : 30, 55 et 85 keV. Ces énergies ont été choisies pour avoir une énergie non-spécifique pour les deux matériaux (l'or et le gadolinium), et une énergie juste au dessus de chaque

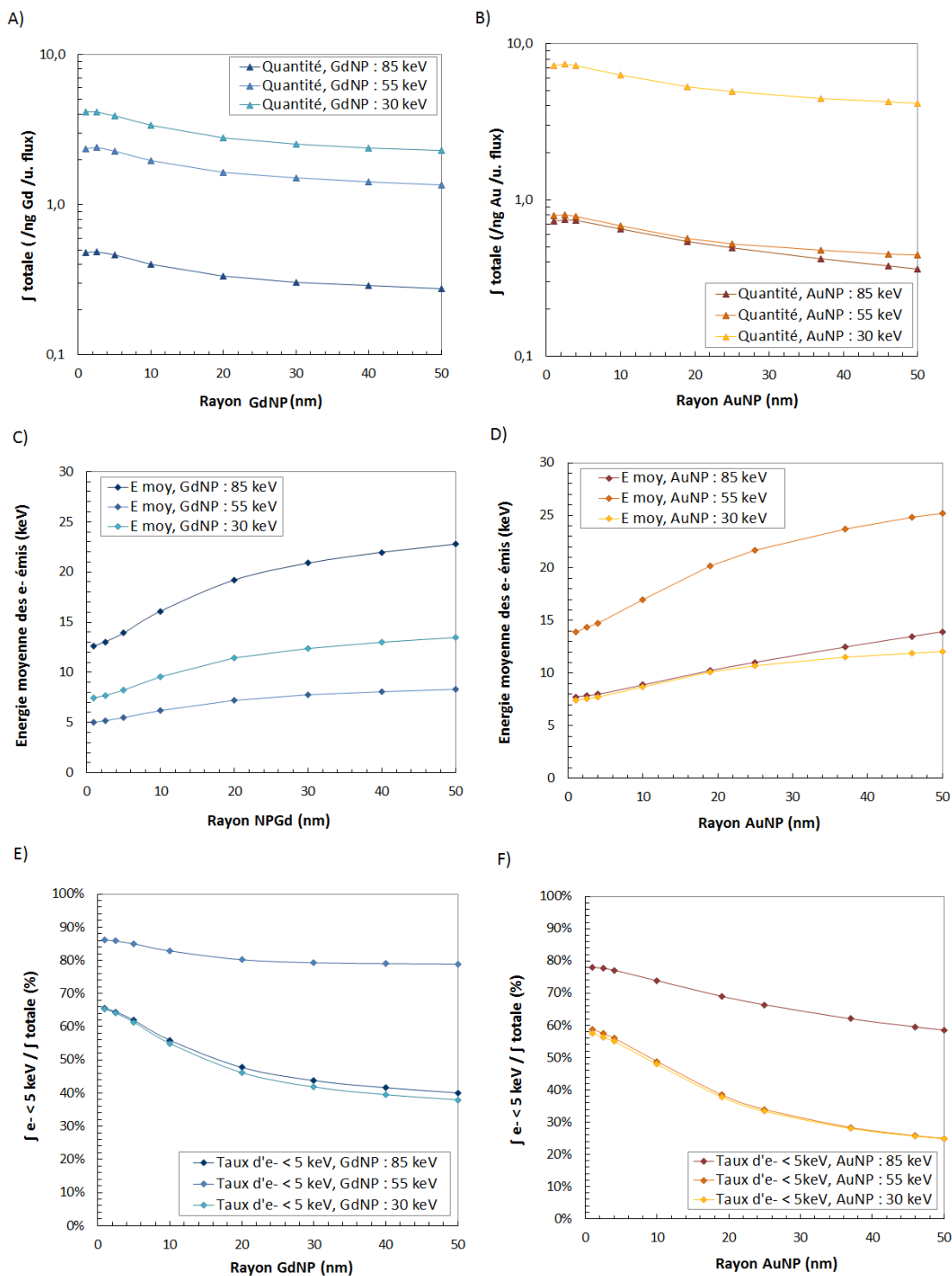


Figure B.4: Comparaison des quantités d'électrons produits (A et B), de l'énergie moyenne (C et D) et du taux d'électrons de basse énergie (E et F) en fonction du rayon d'une NP, pour le gadolinium (A, C, E) et l'or (B, D, F). Trois énergies de faisceau : 30, 55 et 85 keV.

seuil K, à 55 keV et 85 keV. Pour chaque cas la quantité d'électrons produits, l'énergie moyenne et le taux d'électrons de basse énergie (< 5 keV) ont été mesurés. La Figure B.4 regroupe ces trois quantités réparties sur six figures pour comparer l'or et le gadolinium côte-à-côte.

Une analyse détaillée de la comparaison de ces trois grandeurs, entre l'or et le gadolinium, a été faite en section 4.2.4 en prenant l'énergie de 55 keV pour le gadolinium et de 85 keV pour l'or. Au vu de la Figure B.4 nous voyons qu'il est difficile de comparer les deux matériaux à énergie égale, en raison de la présence des seuils K qui ont une influence très importante dans l'étude des électrons de basse énergie.

B.2 Analyse des doses

B.2.1 Profils de dose autour d'une GdNP : fonction de l'énergie de faisceau

La figure présentée dans cette annexe est un complément de l'analyse faite en section 4.3.3, concernant l'augmentation de dose locale à l'échelle du nanomètre. Il s'agit de la comparaison de profils de DEF, obtenus pour différentes énergies de faisceau, dans le cas d'une GdNP de 50 nm de rayon. Les profils tracés selon un axe perpendiculaire au faisceau (Y) peuvent être trouvés en Figure B.5-A et ceux obtenus selon l'axe parallèle au faisceau (Z) peuvent être trouvés en Figure B.5-B. Les profils ont été tracés entre la surface de la NP, à 50 nm, et la surface de la sphère d'eau, à 500 nm.

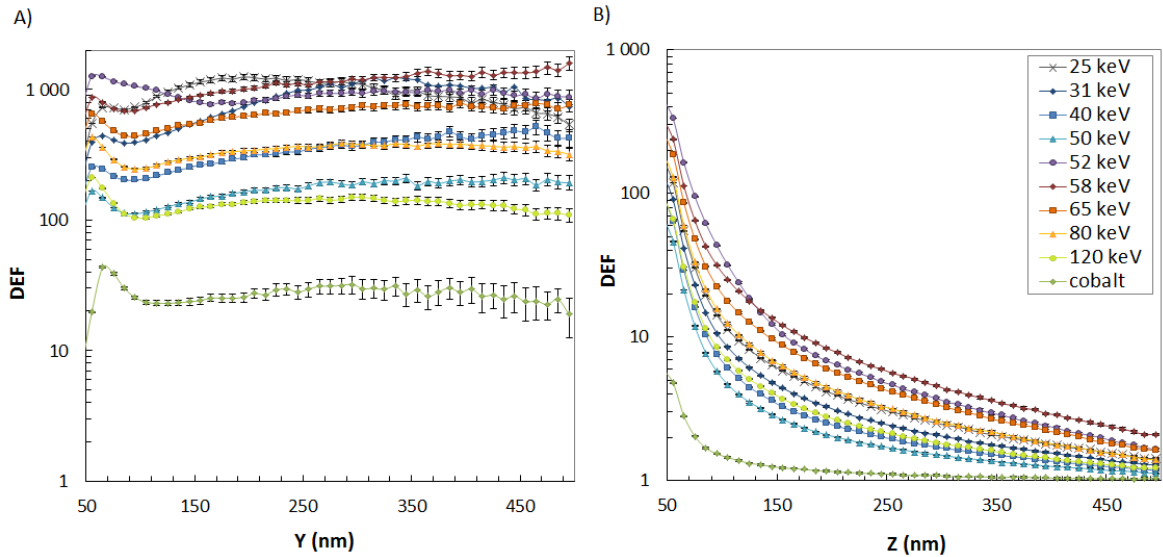


Figure B.5: Profils de DEF selon l'axe Y (A) et Z (B), obtenus pour une GdNP de 50 nm de rayon irradiée à différentes énergies.

En complément de l'analyse faite au chapitre 4, nous pouvons voir que le DEF

hors-champ (Figure B.5-A) reste constant sur toute la distance étudiée alors que le DEF dans le champ (Figure B.5-B) décroît très rapidement avec la distance à la NP. Des facteurs de 10 à 1000, selon l'énergie de faisceau, sont obtenus dans le premier cas, avec un minimum pour le cobalt. Dans le champ, la décroissance est très rapide sur les 100 premiers nanomètres (à partir de la surface de la NP), puis elle devient plus douce ensuite avec un DEF inférieur à 10 pour toutes les énergies.

À part les différences d'amplitudes, nous voyons peu d'influence de l'énergie du faisceau sur la forme des profils.

